

EMIR BOLZANI SAAD

**IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL E SÍNTESE DOS COMPONENTES
DO FEROMÔNIO SEXUAL DE *Thelosia camina*
(LEPIDOPTERA:EUPTEROTIDAE)**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná, como parte dos requisitos para a obtenção do grau de doutor em Química. Setor de Ciências Exatas da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Paulo H. G. Zarbin

Data de admissão: Abril de 2010.

CURITIBA

2015

RESUMO

A cultura da Erva mate vem ganhando destaque na região sul do Brasil, e a mariposa da erva mate, *Thelosia camina*, é considerada uma das principais pragas dessa cultura. O desfolhamento provocado por esse Lepidóptero ocorre na fase de maior crescimento da planta, comprometendo seriamente a produção. O feromônio natural foi extraído das glândulas feromonais de fêmeas via extração por solvente, entre a última hora da escotofase e primeira hora da fotofase. A atividade eletroantenográfica dos compostos em antenas de machos foi testada em CG-EAD, sendo observada a presença de três possíveis componentes feromonais majoritários e outros seis componentes minoritários sendo esses possíveis isômeros dos componentes majoritários, além outros dois componentes de menor resposta bioativa. A estrutura química dos compostos foi estudada por Índice de Kovats e através das análises de seus respectivos perfis cromatográficos, espectros de massas (CG-EM) e de infravermelho (CG-IV), assim como por análise de produtos de microderivatizações com 4-metil-1,2,4-triazolina-3,5-diona (MTAD). As informações espectroscópicas e cromatográficas obtidas indicaram que os compostos majoritários referem-se a aldeídos, álcoois e ésteres todos com cadeia principal de 18 carbonos e duas ligações duplas conjugadas com isomeria *Z,Z*. As respectivas estruturas identificadas foram: o (13*Z*,15*Z*)-octadeca-13,15-dienal (**1a**), o (13*Z*,15*Z*)-octadeca-13,15-dien-1-ol (**2a**), e o acetato de (13*Z*,15*Z*)-octadeca-13,15-dien-1-ila (**3a**). Todos os compostos identificados foram sintetizados e caracterizados pelas técnicas anteriormente citadas juntamente com a espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C .

ABSTRACT

The Poplar crop has gaining attention in the southern region of Brazil, and the poplar moth *Thelosia camina*, is considered the major pest of this culture. The defoliation caused by this Lepidoptera occurs on the higher phase of plant grown, affecting seriously the production. The natural pheromone was extracted from female pheromonal glands by the use of solvent extraction, between the last hour of scotophase and first hours of photophase. The electroantennographic activity of these compounds in male antennae was tested in GC-EAD assays, and it was observed the presence of three possible pheromonal major components, and six minor components, these possible isomers of the major components, and two components of minor bioactive response. The chemical structure of the compounds was studied by analyzing their chromatographic profiles, mass (GC-MS) and infrared spectra (GC-FTIR), as well as by analysis of microderivatizations products with 4-methyl-1,2,4-triazol-3,5-dione (MTAD). The spectroscopic and chromatographic information obtained indicated that the compounds refer to aldehydes, alcohols and esters having 18 carbon atoms in the main chain and two conjugated double bonds with Z isomerism. The structures were identified as: (13Z,15Z)-octadeca-13,15-dienal (**1a**), o (13Z,15Z)-octadeca-13,15-dien-1-ol (**2a**) and (13Z,15Z)-octadeca-13,15-dien-1-yl acetate (**3a**). All synthesized compounds were identified and characterized by the aforementioned techniques along with ^1H - ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy.

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|----------------|--|
| CCD | Cromatografia em camada delgada |
| CG | Cromatografia gasosa ou cromatógrafo gasoso |
| CG-EAD | Cromatografia gasosa acoplada à eletroantenografia |
| CG-EM | Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas |
| CG-IV | Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria no infravermelho |
| DCM | Diclorometano |
| DHP | 3,4-diidro-2H-pirano |
| EAD | Detector eletroantenográfico (do inglês, <i>electroantennographic detector</i>) |
| EM | Espectrometria de massas |
| FID | Detector de ionização de chama (do inglês, <i>flame ionization detector</i>) |
| IV | Espectroscopia no infravermelho |
| HMPA | hexametilfosforoamida (do inglês, <i>hexamethylphosphoramide</i>) |
| IK | Índice de Kovats |
| <i>m/z</i> | Relação massa/carga |
| MTAD | 4-metil-4H-1,2,4-triazolina-3,5-diona |
| <i>n</i> -BuLi | <i>n</i> -butillítio |
| PCC | Clorocromato de piridínio |
| <i>p</i> -TSA | Ácido <i>p</i> -toluenosulfônico (do inglês, <i>p-toluenesulfonic acid</i>) |
| RMN | Ressonância magnética nuclear |
| THF | Tetraidrofurano |
| THP | Tetraidropirano |
| | Deslocamento químico |
| | Número de onda |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 13 |
| 1.1. ECOLOGIA QUÍMICA DE INSETOS | 13 |
| 1.2. SEMIOQUÍMICOS NO CONTROLE DE PRAGAS AGRÍCOLAS | 13 |
| 1.3. ERVA-MATE (ILEX PARAGUARIENSIS) | 17 |
| 1.4. FEROMÔNIO SEXUAL DE LEPIDÓPTEROS | 18 |
| 1.5. <i>THELOSIA CAMINA</i> (LEPIDOPTERA: EUPTEROTIDAE) | 20 |
| 1.6. RECONHECIMENTO DE <i>THELOSIA CAMINA</i> NO CAMPO | 21 |
| 2. OBJETIVOS..... | 23 |
| 2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 23 |
| 3. MATERIAIS E MÉTODOS | 24 |
| 3.1. COLETA E CRIAÇÃO DE <i>THELOSIA CAMINA</i> | 24 |
| 3.2. EXTRAÇÃO DE GLÂNDULAS DE FEROMÔNIO EM LABORATÓRIO | 27 |
| 3.3. ANÁLISES INICIAIS DOS EXTRATOS DAS GLÂNDULAS DE FEROMÔNIO | 28 |
| 3.4. ELETROANTENOGRAMA ACOPLADO A CROMATOGRAFIA DE FASE GASOSA (CG-EAD) ^[30] | 28 |
| 3.5. DETERMINAÇÃO DOS ÍNDICES DE KOVATS ^[33,34] | 29 |
| 3.6. ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL | 30 |
| 3.7. CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO (CG-IV) | 30 |
| 3.8. MICRODERIVATIZAÇÕES | 31 |
| 3.8.1. Adição de 4-metil-1,2,4-triazolina-3,5-diona (MTAD) a dienos conjugados ^[35] | 31 |
| 3.9. SÍNTESE DOS COMPONENTES DO EXTRATO DAS GLÂNDULAS DE FÊMEAS DE <i>THELOSIA CAMINA</i> | 31 |
| 3.9.1. Síntese do composto 5 ^[37] | 32 |
| 3.9.2. Síntese do composto 6 ^[38,39] | 33 |
| 3.9.3. Síntese do composto 7 ^[38] | 34 |
| 3.9.4. Síntese do composto 8 ^[40] | 35 |
| 3.9.5. Síntese do composto 9 ^[41] | 36 |

| | |
|---|-----------|
| 3.9.6. Síntese do composto 10a e 10b ^[42] | 37 |
| 3.9.7. Síntese do composto 11a e 11b ^[43,44] | 38 |
| 3.9.8. Síntese do composto 11c e 11d ^[38] | 40 |
| 3.9.9. Síntese do composto 2a e estereoisômeros ^[38] | 41 |
| 3.9.10. Síntese do composto 1a e estereoisômeros ^[46] | 41 |
| 3.9.11. Síntese do composto 3 e estereoisômeros ^[38] | 42 |
| 3.9.12. Síntese do composto 12 ^[47] | 43 |
| 3.9.13. Síntese do composto 13 ^[38] | 43 |
| 3.9.14. Síntese do composto 14 ^[48] | 44 |
| 3.9.15. Síntese do composto 15 ^[46] | 45 |
| 3.9.16. Síntese do composto 16 ^[38] | 45 |
| 3.10. TESTE DE CAMPO | 46 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 47 |
| 4.1. DETERMINAÇÃO DOS COMPONENTES BIOATIVOS PRESENTES NOS EXTRATOS DE <i>THELOSIA CAMINA</i> | 47 |
| 4.2. IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DOS COMPONENTES MAJORITÁRIOS ENCONTRADOS NOS EXTRATOS DAS GLÂNDULAS DE FÊMEAS DE <i>T. CAMINA</i> | 50 |
| 4.3. ESTUDOS VISANDO À SÍNTESE DOS COMPONENTES BIOATIVOS DE <i>THELOSIA CAMINA</i> | 64 |
| 4.3.1. Preparação do composto 5 | 68 |
| 4.3.2. Preparação do composto 6 | 70 |
| 4.3.3. Preparação do composto 7 | 72 |
| 4.3.4. Preparação do composto 8 | 74 |
| 4.3.5. Preparação do composto 9 | 77 |
| 4.3.6. Preparação do composto 10a e 10b | 78 |
| 4.3.7. Preparação do composto 11a e 11b | 83 |
| 4.3.8. Preparação do composto 11c e 11d | 86 |
| 4.3.9. Preparação dos compostos 1a, 2a e 3a e seus estereoisômeros .. | 88 |
| 4.3.10. Preparação do composto 12 | 96 |
| 4.3.11. Preparação do composto 13 | 97 |
| 4.3.12. Preparação do composto 14 | 99 |
| 4.3.13. Preparação do composto 15 | 100 |
| 4.3.14. Preparação do composto 16 | 101 |

| | |
|---|------------|
| 4.4. TESTE DE CAMPO..... | 104 |
| 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 106 |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 107 |

ÍNDICE DE ESQUEMAS

| | |
|--|-----|
| Esquema 1. Biossíntese do feromônio sexual de <i>Bombyx mori</i> | 19 |
| Esquema 2. Rota biossintética para a produção do feromônio sexual de <i>Spodoptera exigua</i> e <i>Cadra cautella</i> | 19 |
| Esquema 3. Cicloadição de Diels-Alder empregando-se MTAD | 57 |
| Esquema 4. Proposta sintética 1. Parte 1: | 65 |
| Esquema 5. Proposta sintética 1. Parte 2: | 66 |
| Esquema 6. Proposta sintética 2. | 67 |
| Esquema 7. Preparação do composto 5 | 68 |
| Esquema 8. Preparação do composto 6 | 70 |
| Esquema 9. Preparação do composto 7 | 72 |
| Esquema 10. Preparação do composto 8 | 74 |
| Esquema 11. Preparação do composto 9 | 77 |
| Esquema 12. Preparação do composto 10a e 10b | 78 |
| Esquema 13. Ciclo catalítico da reação de acoplamento de Sonogashira. | 79 |
| Esquema 14. Preparação do composto 11a e 11b | 83 |
| Esquema 15. Preparação do composto 11c e 11d | 86 |
| Esquema 16. Preparação do composto 1a , 2a e 3a | 88 |
| Esquema 17. Preparação do composto 12 | 96 |
| Esquema 18. Preparação do composto 13 | 97 |
| Esquema 19. Preparação do composto 14 | 99 |
| Esquema 20. Preparação do composto 15 | 100 |
| Esquema 21. Preparação do composto 16 | 101 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Classificação dos semioquímicos..... | 15 |
| Figura 2. Inseto adulto, fêmea de <i>Thelosia camina</i> | 20 |
| Figura 3. Ovos de <i>T. camina</i> (A); planta de erva-mate desfolhada pela praga (B); | 21 |
| Figura 4. Quarto ínstar (A) e quinto instar (B) de <i>Thelosia camina</i> | 22 |
| Figura 5. Fase de pré-pupa (A) e pupa (B) de <i>Thelosia camina</i> | 22 |
| Figura 6. Coleta de pupas de <i>Thelosia camina</i> no solo: Raspagem da terra ao redor da planta de erva-mate para coleta de pupas (A); utilização de peneira para separar a terra das pupas (B). | 25 |
| Figura 7. Gaiolas para criação de larvas (A) e adultos (B) de <i>Thelosia camina</i> | 26 |
| Figura 8. Adultos de <i>Thelosia camina</i> : Fêmea à esquerda e macho à direita. 26 | |
| Figura 9. Vista dorsal dos últimos segmentos abdominais da fêmea de <i>T. camina</i> , mostrando a glândula de feromônio sexual (evidenciada pelo círculo vermelho), que foi evertida e retirada. | 27 |
| Figura 10. Montagem de uma das antenas do macho no eletrodo do EAD. ... | 29 |
| Figura 11. Resposta de antenas de machos de <i>T. camina</i> no CG-EAD aos compostos presentes nos extratos de glândulas de feromônio sexual de fêmeas. A linha inferior representa os sinais obtidos da antena do macho e a linha superior representa os compostos presentes no extrato de glândulas de fêmeas. | 47 |
| Figura 12. Ampliação do eletroantenograma no tempo de retenção de 18 a 23 minutos..... | 48 |
| Figura 13. Cromatograma do extrato das glândulas de fêmeas de <i>T. camina</i> (temperatura do forno a 50°C aumentada para 250°C a uma taxa de 7°C min ⁻¹ , sendo mantida nesta temperatura por 10 min). | 49 |
| Figura 14. Espectro de massas referente ao composto 1a | 50 |
| Figura 15. Espectro de infravermelho do componente natural 1a | 51 |
| Figura 16. Espectros de infravermelhos de alcadienos conjugados (figura de Kellersmann, 2006) ^[53] | 52 |

| | |
|---|----|
| Figura 17. Espectro de infravermelho do componente natural 1a com expansão na região de 990 a 940 cm^{-1} | 53 |
| Figura 18. Espectro de infravermelho do componente natural 2a com expansão da região de 1100 a 700 cm^{-1} | 54 |
| Figura 19. Espectro de infravermelho do componente natural 3a com expansão da região de 1100 a 700 cm^{-1} | 55 |
| Figura 20. Espectro de massas do componente natural 2a | 56 |
| Figura 21. Espectro de massas do componente natural 3a | 57 |
| Figura 22. Aduto formado pela adição de MTAD ao acetato de (11 <i>E</i> , 13 <i>E</i>)-hexadeca-11,13-dienila..... | 58 |
| Figura 23. Espectro de massas do derivado de MTAD formado pela reação com o aldeído (composto 1a) presente no extrato de <i>T. camina</i> | 59 |
| Figura 24. Espectro de massas do derivado de MTAD formado pela reação com o éster (composto 3a) presente no extrato de <i>T. camina</i> | 59 |
| Figura 25. Estruturas proposta para os componentes majoritários de <i>T. camina</i> ((13 <i>Z</i> , 15 <i>Z</i>)-octadeca-13,15-dienal (1a), (13 <i>Z</i> , 15 <i>Z</i>)-octadeca-13,15-dien-1-ol (2a), acetato de (13 <i>Z</i> , 15 <i>Z</i>)-octadeca-13,15-dien-1-ila (3a)). | 60 |
| Figura 26. Estruturas propostas para os isômeros do aldeído, do álcool e do éster identificados como possíveis componentes da mistura feromonal de <i>T. camina</i> | 61 |
| Figura 27. (A) Perfil Cromatográfico e respostas bioativas das antenas de machos de <i>T. camina</i> no CG-EAD e Ampliação do eletroantenograma no tempo de retenção de 18 a 23 minutos. | 62 |
| Figura 28. (A) Cromatograma do extrato das glândulas de fêmeas de <i>T. camina</i> na região de 18 a 23 minutos e (B) Ampliação do cromatograma identificando outros os compostos com respostas bioativas (temperatura do forno a 50°C aumentada para 250°C a uma taxa de 7°C/min)..... | 63 |
| Figura 29. Estruturas químicas dos compostos 15 e 16 | 64 |
| Figura 30. Espectro de massas do composto 5 | 69 |
| Figura 31. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 5 | 69 |
| Figura 32. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto 5 | 70 |
| Figura 33. Espectro de massas do composto 6 | 71 |
| Figura 34. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 6 | 71 |

| | |
|---|----|
| Figura 35. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto 6 . | 72 |
| Figura 36. Espectro de massas do composto 7 . | 73 |
| Figura 37. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 7 . | 73 |
| Figura 38. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto 7 . | 74 |
| Figura 39. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do 1-iodo-1-butino. | 75 |
| Figura 40. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do 1-iodo-1-butino. | 75 |
| Figura 41. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 8 . | 76 |
| Figura 42. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto 8 . | 76 |
| Figura 43. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 9 . | 78 |
| Figura 44. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto 9 . | 78 |
| Figura 45. Espectro de massas do composto 10a . | 80 |
| Figura 46. Espectro de massas do composto 10b . | 80 |
| Figura 47. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 10a . | 81 |
| Figura 48. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto 10a . | 81 |
| Figura 49. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 10b . | 82 |
| Figura 50. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto 10b . | 82 |
| Figura 51. Espectro de massas do composto 11a . | 83 |
| Figura 52. Espectro de massas do composto 11b . | 84 |
| Figura 53. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 11a . | 84 |
| Figura 54. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto 11a . | 85 |
| Figura 55. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 11a . | 85 |
| Figura 56. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto 11b . | 86 |
| Figura 57. Espectro de massas do composto 11c . | 87 |
| Figura 58. Espectro de massas do composto 11d . | 87 |
| Figura 59. Espectro de massas do composto majoritário 1a . | 89 |
| Figura 60. Espectro de massas do composto majoritário 2a . | 89 |
| Figura 61. Espectro de massas do composto majoritário 3a . | 90 |
| Figura 62. Espectros de infravermelhos de alcadienos conjugados 3b e 3c . | 91 |
| Figura 63. Espectro de infravermelho de alcadieno conjugado 3d . | 92 |
| Figura 64. Espectro de infravermelho de alcadieno conjugado 3a . | 93 |
| Figura 65. Espectro de infravermelho do éster majoritário do extrato natural de <i>Thelosia camina</i> . | 94 |

| | |
|--|-----|
| Figura 66. Co-injeção do extrato natural de <i>T. camina</i> (A) e dos alcadienos conjugados do grupo 3 (B). | 95 |
| Figura 67. Espectro de massas do composto 12 | 96 |
| Figura 68. Espectro de massas do composto 13 | 97 |
| Figura 69. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 13 | 98 |
| Figura 70. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto 13 | 98 |
| Figura 71. Espectro de massas do composto 14 | 99 |
| Figura 72. Espectro de massas do composto 15 | 100 |
| Figura 73. Espectro de massas do composto 16 | 101 |
| Figura 74. Comparação dos cromatogramas do extrato natural evidenciando composto minoritário (IK=2018) (A) com o composto sintético 15 (B). | 102 |
| Figura 75. Comparação dos espectros de massas do composto natural minoritário (IK=2018) com o composto sintético 15 | 103 |
| Figura 76. Comparação dos cromatogramas do extrato natural evidenciando composto minoritário (IK=2202) (A) com o composto sintético 16 (B). | 103 |
| Figura 77. Comparação dos espectros de massas do composto natural minoritário (IK=2202) com o composto sintético 16 | 104 |
| Figura 78. Machos de <i>Thelosia camina</i> capturados no tase de campo na armadilha contendo 1mg dos componentes majoritários da mistura feromonal. | 105 |
| Figura 79. Armadilha do tipo “Delta” juntamente com o liberador de feromônio, utilizada para captura de machos de <i>Thelosia camina</i> | 105 |

ÍNDICE DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Índices de Kovats dos compostos majoritários das glândulas de fêmeas em coluna RTX-5..... | 49 |
| Tabela 2. Índices de Kovats dos compostos isômeros minoritários das glândulas de fêmeas em coluna RTX-5. | 61 |

1. INTRODUÇÃO

1.1. Ecologia química de insetos

Ecologia é a ciência que estuda interações entre os organismos e seu ambiente. O estudo dessas relações mediadas por substâncias químicas é chamado de Ecologia Química ^[1]. Os animais comunicam-se através do uso de sinais visuais, acústicos, táteis e/ou químicos. Entre os insetos, observa-se o uso de todos esses sinais no que se refere à comunicação; entretanto cada espécie difere sensivelmente quanto à ênfase dada a cada um deles. O fator que determina qual é o principal sinal utilizado por determinada espécie está intimamente ligado com a natureza de seu habitat, seu comportamento e a interação desta espécie com seu meio ambiente ^[2]. Cada um destes sinais tem sua importância para determinada espécie, entretanto os sinais químicos, de modo geral, destacam-se como os grandes responsáveis pela comunicação entre insetos e seu meio ambiente ^[3]. Estes sinais podem ser recebidos a curta, ou longa distância, independente do horário do dia e do tipo de habitat. Porém, a qualidade de recepção destes sinais depende da quantidade e volatilidade das substâncias liberadas a partir da fonte, da velocidade e turbulência do vento e da interferência da vegetação e outras barreiras físicas.

1.2. Semioquímicos no controle de pragas agrícolas

A crescente preocupação de organizações nacionais e internacionais com o impacto ambiental causado por resíduos de pesticidas e agrotóxicos empregados no controle de pragas, utilizados em grande escala, para o aumento da produtividade agrícola, tem despertado um grande interesse na comunidade científica sobre o estudo de semioquímicos envolvidos nas relações planta-inseto e inseto-inseto. O uso de semioquímicos, como forma

alternativa no controle de pragas, proporciona uma série de vantagens, entre as quais: simplicidade, economia e um menor impacto ambiental.

Os insetos exercem suas relações ecológicas com o ambiente e com os outros organismos de diversas maneiras, sendo uma das mais importantes a comunicação por meio da emissão de voláteis. Estes compostos agem como gatilhos de reações comportamentais específicas no indivíduo receptor da mensagem química. Em uma nomenclatura mais generalista, essas substâncias são denominadas semioquímicos ^[4]. Esse termo genérico engloba os compostos químicos envolvidos nas interações intra-específica (feromônios) e inter-específicas (aleloquímicos) dos insetos ^[5].

Feromônios e aleloquímicos são classificados de acordo com o tipo de comportamento que provocam ^[6]. Sinais emitidos por meio de feromônios podem atuar de forma prolongada na fisiologia e desenvolvimento dos insetos (denominados “preparadores”) ou podem provocar mudança imediata no comportamento dos indivíduos (denominados “desencadeadores”). Estes feromônios podem atuar como atraentes sexuais, marcadores de trilhas, ou propiciar comportamentos de agregação, alarme, dispersão, entre outros (Figura 1).

Os aleloquímicos diferenciam-se de acordo com o tipo de organismo que está sendo beneficiado na comunicação. Kairomônios são sinais químicos que, quando liberados, beneficiam somente o agente receptor. Alomônios, ao contrário, são sinais químicos que somente favorecem o emissor. Já os sinomônios favorecem tanto o agente emissor como o receptor do sinal. O termo feromônio (*pherein* = transferir, *hormon* = excitar), foi cunhado em 1959 por Karlson e Lüscher (1959) ^[7], entre os semioquímicos o feromônio é o mais estudado definindo-se como substâncias químicas secretadas e utilizadas pelos insetos para a comunicação intra-específica ^[8], ou seja, entre os indivíduos de uma mesma espécie. Entre os insetos, vários tipos de feromônios são reconhecidos com base nos comportamentos que induzem ^[9]. Os comportamentos mediados por feromônios incluem a atração do sexo oposto para acasalamento (feromônios sexuais), a agregação de ambos os sexos a um local específico para alimentação, proteção contra predadores (feromônios de agregação) e demarcação ou a formação de trilhas (feromônios de trilha).

Além desses, os insetos sociais utilizam uma variedade de feromônios para regular as atividades na colônia. ^[10]

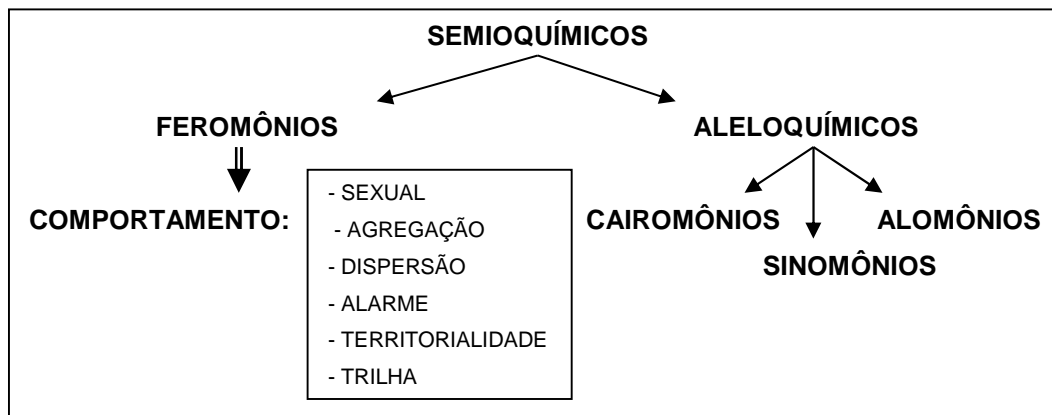


Figura 1. Classificação dos semioquímicos.

Dentre os feromônios mais investigados nas relações entre insetos, podemos citar os de trilha, território ou marcação, alarme, oviposição, agregação e sexual.

Os feromônios foram caracterizados, pela primeira vez na Alemanha, em 1956. Em um trabalho realizado ao longo de vinte anos e utilizando milhares de insetos para este fim, os pesquisadores extraíram cerca de 12 mg de um feromônio da mariposa do bicho-da-seda *Bombyx mori*. A substância foi identificada como sendo o (10*E*,12*Z*)-hexadeca-10,12-dien-1-ol, também conhecido como bombicol, e é produzida pela mariposa-fêmea para atrair os machos para o acasalamento.

No final da década de 60 foram isolados e identificados os primeiros feromônios quirais, como por exemplo, o acetal cíclico exo-brevicomina, feromônio de agregação do besouro *Dendroctonus brevicomis* ^[11].

Desde então, centenas de feromônios têm sido isolados e caracterizados, com estruturas que vão desde álcoois e hidrocarbonetos mais simples até compostos polifuncionados mais complexos.

A síntese de semioquímicos em laboratório é hoje uma área em expansão na química orgânica, permitindo não só a caracterização total dos

feromônios naturais isolados (através da comparação de propriedades físicas e químicas conhecidas), mas também fornecendo material em quantidades suficientes para estudos na área de entomologia e na agricultura.

Tradicionalmente, o controle de insetos-praga é feito através do uso de inseticidas, que apresentam uma série de inconvenientes tais como alto custo, riscos de intoxicação, resíduos em alimentos, desenvolvimento de resistência das pragas, surgimento de pragas secundárias e, principalmente, a contaminação ambiental. A solução para o controle de insetos pragas está vinculada ao desenvolvimento de agentes que viessem a atingir apenas as espécies alvo, eliminando os efeitos negativos causados por pesticidas. Sob tais aspectos, os semioquímicos ocupam lugar de destaque.

Os principais métodos para a aplicação de feromônios, especialmente feromônios sexuais ou de agregação, no controle biorracional de insetos-pragas, são armadilhas utilizadas para monitoramento, coleta massal e confundimento.

No monitoramento, os insetos atraídos e retidos nas armadilhas, dia após dia, indicam a quantidade de insetos na lavoura, informando ao agricultor a velocidade de crescimento da praga, preparando-o para intervir com o método mais adequado.

O modo de ação conhecido como coleta massal, consiste em concentrar armadilhas em uma área com a finalidade de capturar o maior número de insetos para limitar seus danos.

Além do emprego como atraentes em armadilhas, os feromônios sintéticos também podem ser liberados na atmosfera para a "interrupção dos acasalamentos" (confundimento). Neste caso, desorientam-se os machos que não conseguem encontrar os rastros normais de feromônios das parceiras para o acasalamento e vice-versa. Esta técnica inibe a procriação e evita a ocorrência de níveis populacionais altos da praga ^[12].

1.3. Erva-mate (*Ilex paraguariensis*)

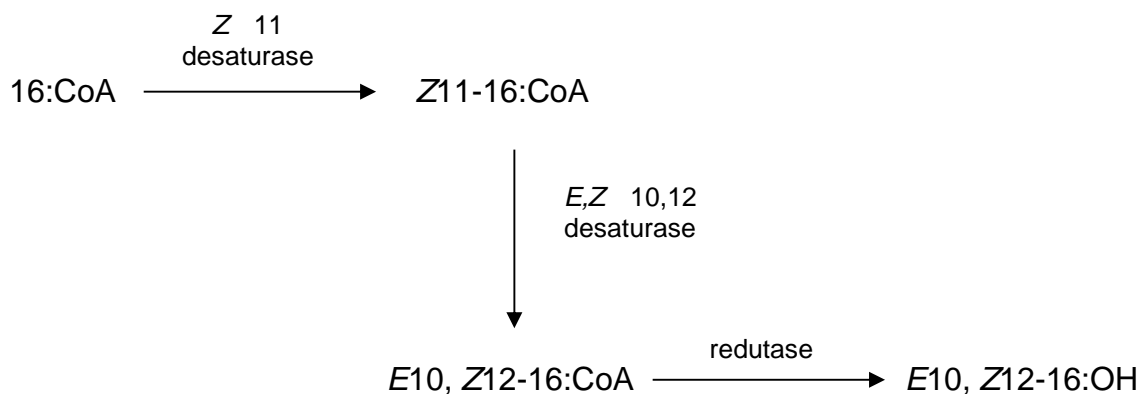
No Sul do Brasil, a exploração da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) é uma importante atividade econômica e social, principalmente na agricultura familiar. O cultivo é feito em cerca de 180 mil propriedades rurais de 596 municípios, gerando mais de 710 mil empregos diretos e mais de R\$ 175 milhões anuais [13]. Inúmeros são os produtos e as aplicações desta cultura, tais como bebidas (chimarrão, tereré, chá mate, refrigerante), corante natural, conservante alimentar, medicamentos, produtos de higiene, cosméticos e produtos de despoluição ambiental [14]. Dentro do sistema de produção da erva-mate existem algumas pragas que podem reduzir a produtividade. Dentre essas está a lagarta-da-erva-mate, *Thelosia camina* (LEPIDOPTERA: EUPTEROTIDAE) [15-17]. Produtores e técnicos relatam prejuízos com essa lagarta. Apesar do aspecto cíclico da praga, em anos de maior incidência, caso não se realize algum tipo de controle, o inseto causa intensa desfolha nos ervais atacados.

Não existe produto químico recomendado para o controle desta praga e o risco de contaminação das folhas, matéria-prima dos produtos oriundos da erva-mate, torna este método pouco recomendável. Já o controle biológico, com a utilização de agentes entomopatogênicos (fungos, vírus, bactérias e nematoides) e métodos culturais ou mecânicos apresentam maior potencial de uso [18,19]. Outros métodos de monitoramento e controle podem ser pesquisados e empregados na cultura da erva-mate, como é o caso das substâncias químicas voláteis responsáveis pela comunicação intraespecífica, os chamados feromônios, principalmente os sexuais. Dentre as vantagens da utilização de feromônios, estão a facilidade de utilização, a especificidade, o caráter não poluente e a grande compatibilidade com outros métodos de controle [20]. Tanto as táticas biológicas quanto comportamentais, como os feromônios, necessitam de estudos prévios de sua eficiência e aplicabilidade. Informações a respeito do comportamento de lepidópteros-praga, incluindo horário de liberação de feromônio, acasalamento e atividade de vôo, podem ajudar no desenvolvimento de técnicas mais eficientes para atrair, capturar e manipular os adultos e, dessa forma, controlá-los [21].

1.4. Feromônio sexual de Lepidópteros

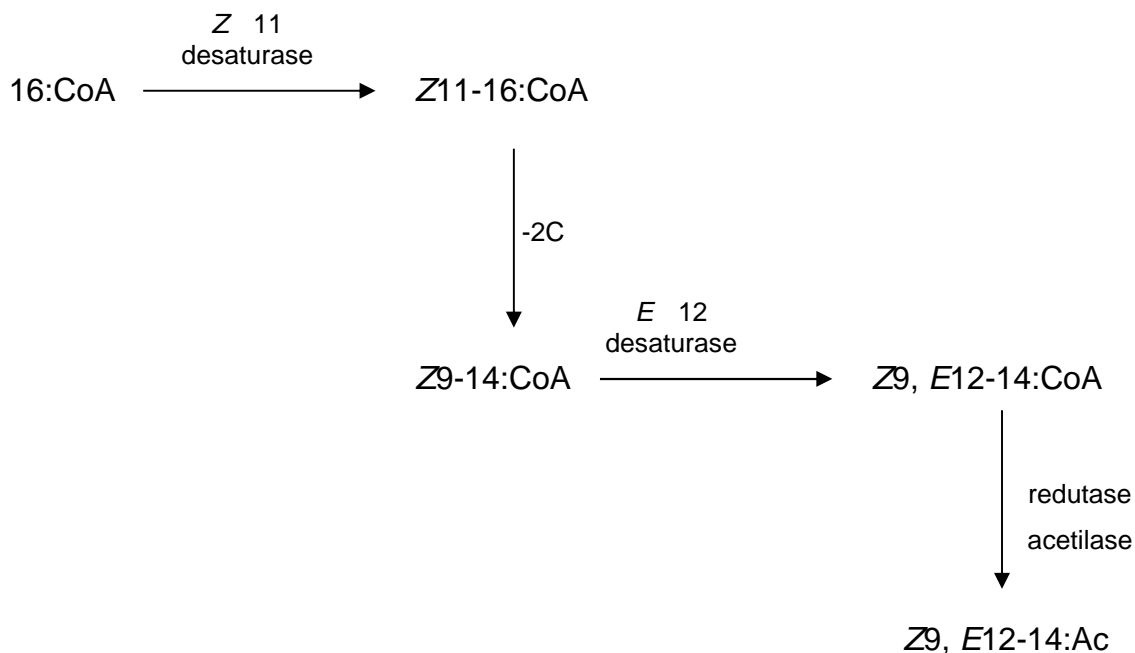
Os feromônios sexuais de lepidópteros já foram identificados para mais de 500 espécies ^[22]. A principal classe dos componentes que compõe o feromônio sexual produzido pelas mariposas, é caracterizado pela presença de compostos alifáticos de cadeia longa, variando de 10 a 18 átomos de carbono, podendo conter uma, duas ou três ligações duplas, além de grupos funcionais oxigenados como, aldeídos, álcoois, ou ésteres ^[23]. Esses compostos são produzidos pela rota biossintética *De novo*, na glândula feromonal das fêmeas, utilizando a rota do acetato, partindo de ácidos graxos saturados construídos a partir da acetilcoenzima-A (aceil-CoA) e malonil-CoA, seguido de uma série de reações, tais como, dessaturação, encurtamento ou alongamento da cadeia e conversão do grupo carboxila em outros grupos terminais como álcoois (reação de redução), aldeídos (reação de redução seguida de oxidação) e ésteres (reação de redução seguida de acetilação) ^[24].

O Bombykol, (*E,Z*) -10,12-hexadecadien-1-ol foi o primeiro feromônio identificado de inseto e é o principal componente do feromônio sexual produzido pelo bicho-da-seda, *Bombyx mori* ^[25]. A biossíntese de bombykol a partir do intermediário ácido palmítico (C16:Acyl) é um processo bastante simples que evita a modificação comum de encurtamento ou alongamento de cadeia e é realizada em três etapas consecutivas, começando com uma dessaturação na posição 11 com a enzima *Z* 11 dessaturase, seguida de outra dessaturação com a enzima *E,Z* 10,12 dessaturase e redução do grupamento carboxila com uma redutase. ^[24-27] (Esquema 1). O primeiro passo de dessaturação é um muito comum, catalisada pela *Z* 11 desaturase utilizada na rota biossintética de numerosas espécies de mariposas. Em contraste, o segundo passo de dessaturação é menos comum, na medida em que gera um sistema de dieno conjugado por meio da 1,4-eliminação dos dois átomos de hidrogênios nas posições alílicas da ligação dupla no intermediário Z11- C16:CoA ^[24-27].



Esquema 1. Biossíntese do feromônio sexual de *Bombyx mori*.

Outro exemplo de biossíntese realizadas pelas mariposas é a rota proposta o feromônio de *Spodoptera exigua* e *Cadra cautella*, onde o intermediário ácido palmítico sofre uma dessaturação com a Z 11 dessaturase seguido de um encurtamento da cadeia em dois átomos de carbono e outra dessaturação com a E 12 dessaturase, e por fim uma redução e acetilação produzindo o Z9,E12-14:Ac ^[28] (Esquema 2).



Esquema 2. Rota biossintética para a produção do feromônio sexual de *Spodoptera exigua* e *Cadra cautella*.

1.5. *Thelosia camina* (LEPIDOPTERA: EUPTEROTIDAE)

O inseto adulto de *T. camina* é uma pequena mariposa. As fêmeas medem aproximadamente 38mm de envergadura e os machos são menores. As asas são franjeadas, de coloração amarelo-palha; as asas anteriores apresentam uma faixa transversal mais escura; as posteriores são de coloração mais escura, da base à parte mediana, continuando o tom amarelo-palha até as bordas (Figura 2). Os machos apresentam um pequeno ponto na faixa escura das asas anteriores ^[15]. O corpo é coberto de pelos longos e amarelado, sendo maiores no tórax.



Figura 2. Inseto adulto, fêmea de *Thelosia camina*.

As posturas, geralmente, são realizadas na parte superior das folhas, com uma média de 81 ovos por postura; estes são de coloração esverdeada e o período de incubação é de 15 a 16 dias. As lagartas, após a eclosão, são verde-claras, com duas faixas escuras longitudinais nos lados do corpo. No último ínstar, as larvas atingem 40 mm de comprimento e apresentam coloração verde-escura, com uma faixa branca dorsal entre duas linhas longitudinais escuras.

1.6. Reconhecimento de *Thelosia camina* no campo

As posturas de *T. camina* são encontradas, em sua maioria, na superfície dorsal das folhas do terço médio das plantas de erva-mate. Os ovos são de formato circular e achatados nas superfícies superior e inferior, de coloração verde clara no início e marrom, próximo à eclosão das lagartas ^[29]. O número de ovos por postura é muito variável, de menos de uma dezena a mais de 200. Esses ovos são depositados de forma simétrica, um ao lado do outro (Figura 3A). O período médio de duração dessa fase é de 10 dias. De maneira geral, as lagartas começam a aparecer na cultura a partir de setembro, indo até dezembro. São vorazes e destroem tanto brotações novas quanto as folhas mais velhas, podendo desfolhar toda a planta (Figura 3B).



Figura 3. Ovos de *T. camina* (A); planta de erva-mate desfolhada pela praga (B);

Possuem cinco ínstaes, com coloração predominante verde e duas faixas escuras longitudinais no dorso. No quarto e no quinto ínstaes, as lagartas apresentam uma faixa branca longitudinal no dorso. No último ínstar também podem ser reconhecidas, em cada segmento, duas manchas vermelhas e várias pontuações pretas abaixo das faixas escuras (Figura 4A e Figura 4B). A lagarta pode atingir 40 mm de comprimento no final do ciclo. Na fase de pré-pupa, as lagartas perdem os pelos e diminuem de tamanho, mantendo a coloração predominante do quinto ínstar (Figura 5A).

Após um período larval médio de um mês, as lagartas empupam (Figura 5B) no solo por um período que pode durar de oito a dez meses ^[29].



Figura 4. Quarto ínstar (A) e quinto instar (B) de *Thelosia camina*.



Figura 5. Fase de pré-pupa (A) e pupa (B) de *Thelosia camina*.

2. OBJETIVOS

Estudar a ecologia química de *Thelosia camina* visando à extração e a identificação estrutural dos componentes do feromônio sexual.

2.1. Objetivos Específicos

- ✓ Extrair glândulas produtoras de feromônio em fêmeas e isolar os componentes com potencial para utilização no manejo integrado da praga;
- ✓ Testar a atividade biológica dos componentes presentes nos extratos, por eletroantenografia acoplada à cromatografia gasosa (CG-EAD);
- ✓ Avaliar as substâncias que tenham potencial para serem consideradas feromônio sexual;
- ✓ Identificar a estrutura química dos compostos bioativos utilizando-se técnicas de derivatização, espectrometria de massas e espectroscopia na região do infravermelho;
- ✓ Caracterizar e sintetizar os possíveis compostos do feromônio sexual;
- ✓ Realizar testes em campo para observar a atratividade dos compostos sintetizados.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram iniciados através do estabelecimento de uma criação do inseto em laboratório (Embrapa Florestas - Curitiba/PR) visando à extração de componentes feromonais. Os extratos obtidos (Laboratório de Semioquímicos – Universidade Federal do Paraná) foram empregados em testes de atratividade para evidenciar a existência de comunicação mediada por feromônios.

As análises químicas foram iniciadas a partir da determinação de quais componentes dos extratos possuem atividade biológica através de ensaios eletrofisiológicos em CG-EAD. A estrutura destes compostos foi então proposta através de análises em CG-EM e CG-IV, assim como pela realização de microderivatizações. Através da síntese das estruturas inicialmente propostas foi possível confirmá-las pela comparação de perfis cromatográficos, atividade biológica e espectros de massas e infravermelho. A síntese das estruturas propostas permitiu também a obtenção destes compostos em maior escala, a fim de utilizá-los em bioensaios no campo para determinar sua eficiência na atratividade dos insetos.

3.1. Coleta e criação de *Thelosia camina*

A coleta de pupas no solo foi feita embaixo de árvores de erva-mate que tiveram ataque da lagarta e nenhum tipo de controle. Esse ataque foi verificado pela desfolha sofrida. As pupas foram coletadas removendo a vegetação embaixo das árvores escolhidas e, com auxílio de uma enxada, raspando a terra até cerca de 10 cm de profundidade (Figura 6A). Esse processo deve ser cuidadoso para não danificar as pupas. Essa terra foi então peneirada e as pupas coletadas (Figura 6B) ^[29].



Figura 6. Coleta de pupas de *Thelosia camina* no solo: Raspagem da terra ao redor da planta de erva-mate para coleta de pupas (A); utilização de peneira para separar a terra das pupas (B).

A partir dos ovos, lagartas e pupas coletados em campo, iniciou-se a manutenção dos insetos em laboratório, em sala de criação, com temperatura de $24 \pm 1,0$ °C, umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h. As posturas foram individualizadas e acondicionadas em caixas de acrílico, tipo gerbox, de 11 cm x 11 cm x 3,5 cm contendo papel filtro umedecido. A manutenção desses insetos foi realizada na Embrapa-Floresta. Após a eclosão, as lagartas foram alimentadas com folhas de erva-mate. Na medida em que as lagartas mudam de ínstar e aumentam em tamanho, elas foram transferidas para potes plásticos de 1 litro e caixas plásticas de 10 litros (12 cm x 26 cm x 36 cm), com tampa revestida com tecido de náilon (Figura 7A). As folhas de erva-mate utilizadas na alimentação das lagartas foram retiradas de árvores sem aplicação de agrotóxicos. Essas folhas, antes de serem oferecidas às lagartas, foram tratadas com uma solução de hipoclorito de sódio a 1% para evitar a contaminação por microrganismos.

As pupas obtidas em laboratório foram sexadas e individualizadas em potes plásticos, contendo areia esterilizada e umedecida, até a emergência dos adultos. Para a criação, os casais (adultos) foram colocados em gaiolas cilíndricas de PVC, medindo 23 cm de diâmetro por 40 cm de altura, tendo janelas com tela de náilon para permitir o acesso (Figura 7B). No interior das gaiolas foram colocados ramos de erva-mate, como substrato de postura e

algodão com mel a 10%, para alimentação. Diariamente, as gaiolas foram observadas para coleta dos ovos, limpeza e troca dos ramos e do alimento. Para efeitos de reconhecimento, os adultos são de coloração amarelo palha, medindo de 30 mm a 40 mm de envergadura, com uma faixa transversal de coloração escura nas asas anteriores. O macho possui coloração mais escura e é um pouco menor que a fêmea (Figura 8) que, por sua vez, possui abdome mais volumoso. Para estudos de ecologia química, como o comportamento de chamamento das fêmeas, além de extração de glândulas para isolamento e identificação de feromônios, são necessários insetos virgens, recém-emergidos, obtidos da criação em laboratório [29].



Figura 7. Gaiolas para criação de larvas (A) e adultos (B) de *Thelosia camina*.



Figura 8. Adultos de *Thelosia camina*: Fêmea à esquerda e macho à direita.

3.2. Extração de glândulas de feromônio em laboratório

As glândulas de feromônio foram dissecadas da extremidade do abdome de fêmeas com 1 - 5 dias de idade (Figura 9), no horário de maior chamamento observado em laboratório (entre a última hora da escotofase e primeira hora da fotofase). As glândulas foram colocadas em um recipiente de vidro. Após a extração de cada grupo de glândulas foram adicionados 150 μ L de hexano destilado, sendo as glândulas mantidas no hexano durante 20 min. Após esse período, o solvente foi retirado com o auxílio de uma micropipeta e colocado em outro recipiente de vidro com tampa, que foi guardado em freezer para ser utilizado para os demais experimentos.



Figura 9. Vista dorsal dos últimos segmentos abdominais da fêmea de *T. camina*, mostrando a glândula de feromônio sexual (evidenciada pelo círculo vermelho), que foi evertida e retirada.

3.3. Análises iniciais dos extratos das glândulas de feromônio

Extratos de glândulas de fêmeas, na concentração de 5 a 10 µL de solvente/glândula de fêmeas (µL/glândula), foram analisados em dois cromatógrafos de fase gasosa modelo Shimadzu CG-2010 sendo um equipado com uma coluna capilar que possui caráter pouco polar, a RTX-5 (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm) (Restek, Bellefonte, Pensilvania, EUA) e outro com uma coluna capilar que possui caráter polar, a RTX-WAX (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm) (Restek, Bellefonte, Pensilvania, EUA). Os equipamentos foram configurados no modo splitless com a temperatura do injetor a 250°C. A temperatura do forno foi mantida a 50°C por 1 minuto, aumentada para 270°C a uma taxa de 7°C/min, sendo mantida nesta temperatura por 10 minutos. O gás carregador usado foi Hélio e a pressão na coluna foi de 170 kPa.

3.4. Eletroantenograma acoplado a cromatografia de fase gasosa (CG-EAD) ^[30]

Extratos de glândulas de fêmeas de *T. camina*, na concentração de 5 a 10 µL/glândula foram analisados utilizando um cromatógrafo de fase gasosa Shimadzu GC-2010 acoplado a um sistema eletroantenográfico Syntech (Hilversum, Holanda), sistema baseado na metodologia proposta por Leal e colaboradores ^[30-32]. O cromatógrafo foi equipado com uma coluna RTX-5 (30 m x 0,25 mm d.i. x 0,25 µm de espessura de filme. Injetou-se 1 µL de cada extrato empregando o modo splitless com a temperatura do injetor a 250°C. A temperatura do forno foi mantida a 50°C por 1 minuto, aumentada para 270°C em uma velocidade de 7°C/min, sendo mantida nesta temperatura por 10 minutos. O gás carregador usado foi Hélio e a pressão na coluna foi de 170 kPa. O efluente da coluna foi dividido em uma razão 1:1 com uma parte indo para o detector de ionização em chama (FID), a uma temperatura de 270°C, e a outra parte indo para a linha de transferência aquecida e com uma corrente de ar umidificado (300 mL/min) que é carregada diretamente para a antena do inseto. As antenas de machos foram cortadas na base e foram colocadas em

eletrodos de platina, que foram conectados ao EAD (Figura 10). Na extremidade dos eletrodos foi colocada uma gota de gel condutor de sinais elétricos (Signa gel, Parker Labs., EUA). O sistema acoplado a um CG, permite uma análise simultânea da resposta da antena e detecção dos componentes químicos presentes nas soluções teste. Com isso, foi possível identificar quais os compostos presentes nos extratos são os responsáveis pela atividade biológica. As imagens geradas do sistema de eletroantenografia acoplado ao cromatógrafo em fase gasosa foram processadas com o programa Syntech GC-EAD32 (versão 4.6).



Figura 10. Montagem de uma das antenas do macho no eletrodo do EAD.

3.5. Determinação dos Índices de Kovats ^[33,34]

Aliquotas contendo 1 μL da solução de hidrocarbonetos de C10 a C26 e 1 μL da solução dos extratos das glândulas de fêmeas foram analisadas por um cromatógrafo de fase gasosa no modo splitless com a temperatura do injetor de 250°C, temperatura do forno foi mantida a 60°C aumentada para 246°C em uma taxa de 3°C/min, sendo mantida nesta temperatura por 10 minutos. O gás carregador usado foi o Hélio e a pressão na coluna foi de 170 kPa.

3.6. Elucidação estrutural

Para as análises dos compostos presentes nos extratos das glândulas de fêmeas, foi utilizado um cromatógrafo de fase gasosa acoplado ao espectrômetro de massas (CG-EM), modelo Shimadzu QP-2010 Plus, equipado com uma coluna capilar RTX-5 (30 m x 0,25 mm d.i. x 0,25 µm) (Restek, Bellefonte, Pensilvania, EUA) com ionização por impacto de elétrons (70 eV). As análises foram realizadas em modo *splitless* com a temperatura do injetor a 250°C. A temperatura do forno foi mantida a 50°C por 1 minuto, aumentada para 270°C em uma taxa de 7°C/min, sendo mantida nesta temperatura por 10 minutos. A linha de transferência operou a 270°C e o gás carregador utilizado foi o Hélio. As estruturas químicas dos compostos foram inicialmente determinadas por análise do padrão de fragmentação de cada composto, tempo de retenção e comparações com a biblioteca NIST do espectrômetro e Índice de Kovats.

3.7. Cromatografia gasosa acoplada à espectroscopia no infravermelho (CG-IV)

Os dados de CG-IV foram obtidos em um sistema em que foram acoplados um cromatógrafo de fase gasosa (Shimadzu CG-2010) a um sistema de detecção DiscovIR-CG (Spectra Analysis). A temperatura do forno do CG foi mantida a 50°C por 1 minuto, aumentada para 270°C em uma velocidade de 7°C/min, sendo mantida nesta temperatura por 10 minutos. O gás de arraste empregado foi Hélio com um fluxo de 1 mL/min. A amostra efluente da coluna cromatográfica foi depositada sobre uma cela de SeZn em uma câmara criogênica mantida a -50°C.

3.8. Microderivatizações

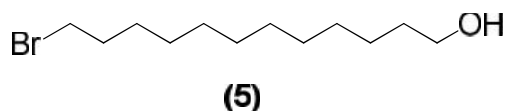
3.8.1. Adição de 4-metil-1,2,4-triazolina-3,5-diona (MTAD) a dienos conjugados ^[35]

Uma solução estoque foi preparada adicionando-se MTAD (4 mg) em diclorometano (DCM) (4 mL) obtendo-se uma concentração final de 1% (m/v). Em um vial com capacidade para 300 µL, adicionou-se 2 µL da solução de MTAD e 10 µL do extrato de glândulas de fêmeas. Após 10 minutos, a amostra foi analisada por CG-EM (Método de análise: 50°C durante 1 minuto, aumentando para 250°C com uma taxa de aumento de 7°C/min e fluxo de He na coluna de 1 mL/min).

3.9. Síntese dos componentes do extrato das glândulas de fêmeas de *Thelosia camina*

Os reagentes e solventes utilizados nas reações foram tratados, quando necessário, seguindo-se métodos descritos na literatura ^[36]. Os solventes utilizados nas reações foram evaporados em um evaporador rotatório Fisatom, modelo 801, operando à pressão reduzida. As reações foram monitoradas via análise cromatográfica em camada delgada (CCD). As placas cromatográficas foram reveladas em iodo molecular em recipientes de vidro e em solução 1% vanilina, 10% H₂SO₄, em etanol seguido de aquecimento. Nas separações feitas por cromatografia em coluna, utilizou-se sílica gel 230-400 mesh ASTM Merck®. As análises de RMN de ¹H e de ¹³C foram realizadas em um espectrômetro Bruker 400 MHz utilizando-se clorofórmio deuterado como solvente. Os deslocamentos químicos (δ) estão expressos em ppm, e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz).

3.9.1. Síntese do composto 5 ^[37]



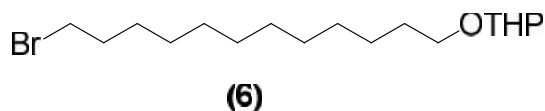
Em um balão de fundo redondo, equipado com um sistema de coleta *Dean-Stark*, adicionou-se sob agitação magnética constante, 2,2 mL de HBr 48% à mistura de 3,37 g (16,7 mmol) de 1,12-dodecanodiol (**4**) e 30 mL de tolueno. A mistura foi agitada em refluxo por um período de 6 horas. A reação foi acompanhada por análise em CCD, em hexano/acetato de etila 8:2. Após o período de refluxo ainda era verificada a presença do diol **4** no meio reacional. Adicionou-se então mais 0,5 mL de HBr 48%, ao balão, e submeteu-se ao refluxo por 6 horas adicionais. Após o término da reação a mistura foi dissolvida em éter, lavada com NaOH (1 mol/L) e solução saturada de NaCl. Secou-se a amostra com Na₂SO₄ anidro. O solvente foi removido sob pressão reduzida. O produto bruto obtido foi purificado em coluna cromatográfica (hexano/acetato de etila 8:2), resultando no composto **5** em 89% de rendimento.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃, ppm) : 3.62 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 3.39 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 1.90 (dq, *J* = 15.5, 7.8 Hz, 2H), 1.61 (dq, *J* = 15.1, 7.6 Hz, 2H), 1.48 – 1.35 (m, 2H), 1.35 – 1.23 (m, 14H).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃, ppm) : 63.1, 34, 32.8, 32.7, 29.5, 29.5, 29.46, 29.4, 29.4, 28.7, 28.1, 25.7.

EM: m/z (%): 41 (60), 42 (14), 43 (33), 54 (10), 55 (100), 56 (23), 57 (26), 67 (23), 68 (31), 69 (84), 70 (18), 81 (17), 82 (28), 83 (66), 95 (10), 97 (59), 111 (14), 137 (10), 148 (20), 150 (19), 162 (10), 164 (10), 218 (2), 220 (2).

3.9.2. Síntese do composto 6 [38,39]



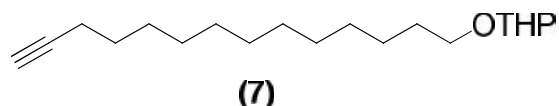
Adicionou-se em um balão de fundo redondo, sob agitação magnética e temperatura ambiente, 0,76 g (9,0 mmol) de 3,4-diidro-2H-pirano (DHP), e 1,92 g (7,5 mmol) do bromo-álcool **5** na presença de alguns cristais de ácido *p*-tolueno sulfônico monohidratado (*p*-TSA), dissolvidos em diclorometano. Após 8 horas de agitação, adicionou-se água e extraiu-se com diclorometano. A fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaHCO₃, e seca com Na₂SO₄ anidro. Evaporou-se o solvente sob vácuo. O produto bruto obtido foi purificado em coluna cromatográfica (hexano/acetato de etila 9,75:0,25), resultando no composto **6** em 95% de rendimento.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃, ppm) : 4.59 (t, *J* = 6.1 Hz, 1H), 3.84 (ddd, *J* = 11.0, 7.4, 3.2 Hz, 2H), 3.70 (dt, *J* = 9.4, 6.9 Hz, 2H), 3.47 (dt, *J* = 5.3, 4.8 Hz, 2H), 3.41 – 3.31 (m, 2H), 1.89 – 1.75 (m, 2H), 1.73 – 1.62 (m, 2H), 1.61 – 1.46 (m, 2H), 1.38 (dd, *J* = 14.0, 6.7 Hz, 2H), 1.34 – 1.18 (m, 16H).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃, ppm) : 98.8, 67.6, 62.3, 34, 32.8, 30.7, 29.7, 29.5, 29.5, 29.5, 29.4, 29.4, 28.7, 28.1, 26.2, 25.5, 19.7.

EM: m/z (%): 41 (15), 43 (11), 55 (23), 56 (20), 57 (15), 69 (14), 83 (10), 84 (15), 85 (100), 97 (3), 101 (3), 347 (1), 349 (1).

3.9.3. Síntese do composto 7 [38]



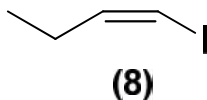
O complexo de acetileto lítio e etilenodiamina (79 mg; 0,855 mmol) foi colocado em 2,5 mL DMSO anidro. A mistura foi resfriada a 10 °C e o composto **6** (0,2 g; 0,57 mmol) foi adicionado gota a gota, com agitação. Após a adição, a mistura reacional escura foi agitada vigorosamente à temperatura ambiente durante 4 horas. Após esse período, foi adicionado lentamente uma mistura de água e gelo. A solução aquosa foi extraída duas vezes com éter etílico. A fase orgânica foi lavada com água e seca com Na₂SO₄ anidro. Evaporou-se o solvente sob vácuo. O resíduo bruto obtido foi purificado em coluna cromatográfica (hexano/acetato de etila 8:2), resultando no composto **7** em 97% de rendimento.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃, ppm) : 4.63 – 4.49 (m, 1H), 3.86 (ddd, *J* = 11.1, 7.4, 3.4 Hz, 2H), 3.72 (dt, *J* = 9.5, 6.9 Hz, 2H), 3.49 (dt, *J* = 5.0, 4.5 Hz, 2H), 3.37 (dt, *J* = 9.5, 6.7 Hz, 2H), 2.17 (td, *J* = 7.1, 2.6 Hz, 2H), 1.93 (t, *J* = 2.6 Hz, 1H), 1.82 (ddd, *J* = 14.9, 9.7, 3.6 Hz, 2H), 1.74 – 1.66 (m, 2H), 1.64 – 1.45 (m, 4H), 1.40 – 1.15 (m, 14H).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃, ppm) : 98.8, 84.7, 68, 67.6, 62.3, 30.7, 29.7, 29.5, 29.4, 29.1, 28.7, 28.5, 26.2, 25.5, 19.7, 18.4.

EM: m/z (%): 41 (19), 43 (11), 55 (23), 56 (18), 57 (10), 67 (20), 81 (15), 85 (100), 101 (32), 109 (3), 293 (1).

3.9.4. Síntese do composto 8 ^[40]



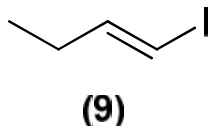
Uma solução de MeLi em éter (1,6 mol/L, 34 mL, 55,5 mmol) foi adicionada a solução de 1-butino em éter (3 mL, 37 mmol) a -70°C. A mistura foi agitada por 1 h a -50°C e então resfriada novamente a -70°C para a adição de uma solução de I₂ em éter (14 g, 55,5 mmol). A mistura foi agitada por 1 h a -70°C e deixada até que atingisse a temperatura ambiente. Adicionou-se água e gelo a mistura e extraiu-se com éter. A fase orgânica foi lavada com solução diluída de NaHSO₃ e com solução de NaCl, e secou-se com Na₂SO₄ anidro. A solução resultante foi purificada através de destilação fracionada (100 mbar/80°C), em 85% de rendimento.

O 1-iodo1-butino em éter anidro (3 g, 16,6 mmol) foi adicionado lentamente em uma solução de dicicloexilborano preparada a partir de uma solução do complexo de borano dimetilsulfeto (24,8 mmol, 12,4 mL da solução 2 mol/L em éter) e cicloexeno (4,1 g, 49,6 mmol) em éter anidro. A adição foi realizada a 0°C sob agitação magnética por 1 h e a 20°C por 3h. Em seguida adicionou-se ácido acético glacial (4 mL, 83 mmol) e agitou-se por 12 horas a temperatura ambiente. O resultante foi adicionado éter, lavado com água e a fase orgânica neutralizada com de uma solução aquosa de NaHCO₃. A mistura foi extraída com éter e a fase orgânica foi purificada através de destilação fracionada (100 mbar/75°C), resultando no composto **8** em 45% de rendimento.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃, ppm) : 6.31 – 5.93 (m, 2H), 2.24 – 1.97 (m, 2H), 1.13 (t, *J* = 6.6 Hz, 3H).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃, ppm) : 142.7, 81.5, 28.2, 12.4.

3.9.5. Síntese do composto 9 ^[41]

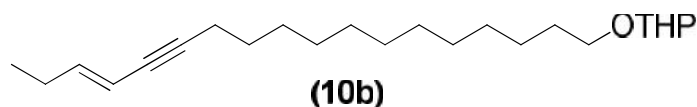
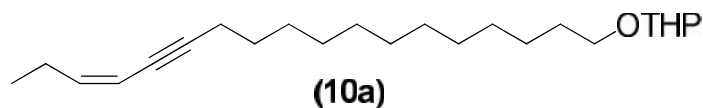


Uma solução de hidreto de diisobutilalumínio em hexano (1 mol/L, 100 mL, 100 mmol) foi adicionado gota a gota a uma solução de 1-butino 2 (7,5 g, 110 mmol) em hexano a -40°C. A mistura resultante foi agitada 30 min, em seguida aquecida lentamente até à temperatura ambiente e agitou-se durante a noite. A mistura foi aquecida até 50°C durante 4 horas, depois se resfriou a -40°C, e uma solução de iodo (25,4 g, 100 mmol) em THF (100 mL) foi adicionado gota a gota durante 30 min. A suspensão, castanho escuro resultante, foi deixada aquecer até à temperatura ambiente com agitação durante a noite, produzindo uma solução amarela pálida límpida. A solução foi arrefecida em um banho de gelo e extinguiu-se lentamente por adição gota a gota de H₂SO₄ gelado (20%, 50 mL) com agitação vigorosa. Depois de se agitar durante 30 min, as fases foram separadas e a fase orgânica foi lavada com solução diluída de NaHSO₃ e com solução de NaCl, e secou-se com Na₂SO₄ anidro. A solução resultante foi purificada através de destilação fracionada (100 mbar/75°C), resultando no composto **9** em 72% de rendimento.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃, ppm) : 6.50 (dt, *J* = 14.4, 6.8 Hz, 1H), 5.92 (d, *J* = 14.4 Hz, 1H), 2.08 – 1.84 (m, 2H), 1.13 (t, *J* = 6.6 Hz, 3H).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃, ppm) : 148, 73.7, 29.2, 12.6.

3.9.6. Síntese do composto 10a e 10b [42]



Adicionou-se a um balão de fundo redondo, sob agitação magnética e temperatura ambiente, 0,87g (4,8 mmol) de (*Z*)-1-iodo-1-buteno (para a obtenção do composto **10a**) ou de (*E*)-1-iodo-1-buteno (para a obtenção do composto **10b**), seguido da adição de 0,215 g (2,5 mmol) de piperidina, 0,07 g (0,06 mmol) de paládio tetrakis, 0,023 g (0,12 mmol) de iodeto de cobre e 5 mL THF anidro. O alquino **7** (0,7 g (2,38 mmol)) diluído em THF anidro foi adicionado gota a gota a mistura reacional. A reação foi agitada por 5 horas, em seguida adicionou-se uma solução saturada de NH_4Cl e extraiu-se com éter. A fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl , e seca com Na_2SO_4 anidro. Evaporou-se o solvente sob vácuo. O produto bruto obtido foi purificado em coluna cromatográfica (hexano/éter 9,5:0,5), resultando nos compostos **10a** e **10b** em 87% e 93% de rendimento respectivamente.

Composto 10a:

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3 , ppm) : 5.80 (dt, $J = 10.7, 7.3$ Hz, 1H), 5.40 (d, $J = 10.7$ Hz, 1H), 4.59 – 4.55 (m, 1H), 3.87 (ddd, $J = 11.2, 7.4, 3.5$ Hz, 2H), 3.73 (dt, $J = 9.6, 6.9$ Hz, 2H), 3.50 (ddd, $J = 10.9, 5.2, 3.4$ Hz, 2H), 3.38 (dt, $J = 9.6, 6.7$ Hz, 2H), 2.38 – 2.20 (m, 2H), 1.93 – 1.78 (m, 2H), 1.73 – 1.69 (m, 2H), 1.63 – 1.48 (m, 4H), 1.45 – 1.19 (m, 16H), 1.00 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , ppm) : 144.0, 108.7, 98.8, 94.5, 67.7, 62.3, 34.1, 30.8, 29.7, 29.6, 29.5, 29.5, 29.5, 29.1, 28.8, 26.2, 25.5, 23.4, 22.3, 19.7, 19.5, 14.0, 13.4.

EM: m/z (%): 41 (13), 43 (9), 55 (16), 57 (9), 67 (17), 79 (20), 81 (9), 85 (100), 91 (11), 93 (12), 94 (19), 95 (12), 101 (11), 275 (3), 348 (1).

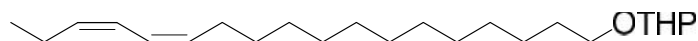
Composto 10b:

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3 , ppm) : 6.12 (dt, $J = 15.8, 6.6$ Hz, 1H), 5.45 (d, $J = 15.8$ Hz, 1H), 4.70 – 4.45 (m, 2H), 3.87 (ddd, $J = 11.1, 7.4, 3.4$ Hz, 2H), 3.73 (dt, $J = 9.5, 6.9$ Hz, 2H), 3.50 (ddd, $J = 10.8, 5.1, 3.4$ Hz, 2H), 3.38 (dt, $J = 9.6, 6.7$ Hz, 1H), 2.38 – 2.20 (m, 2H), 1.93 – 1.78 (m, 2H), 1.73 – 1.69 (m, 2H), 1.63 – 1.48 (m, 4H), 1.45 – 1.19 (m, 16H), 1.00 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H).

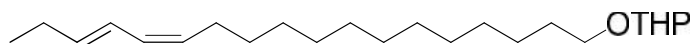
RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , ppm) : 144.6, 108.9, 98.8, 88.8, 67.7, 62.3, 30.8, 29.7, 29.6, 29.5, 29.5, 29.1, 28.9, 28.8, 26.2, 26.0, 25.5, 19.7, 19.3, 13.1.

EM: m/z (%): 41 (14), 43 (9), 55 (18), 57 (9), 67 (18), 79 (21), 81 (9), 85 (100), 91 (12), 93 (12), 94 (22), 95 (14), 101 (9), 121 (8), 275 (3), 348 (1).

3.9.7. Síntese do composto 11a e 11b [43,44]



(11a)



(11b)

O composto **10a** ou **10b** (0,6 g, 1,71 mmol) foi adicionado lentamente em uma solução de díciclohexilborano preparada a partir de uma solução do complexo de borano dimetilsulfeto (5,13 mmol (2,58 mL da solução 2 mol/L)) e 0,846 g (3,45 mmol) de ciclohexeno. A adição foi realizada a 0°C sob agitação magnética. Após 4 horas à temperatura ambiente adicionou-se ácido acético

glacial (0,2 mL, 10,35 mmol) e elevou-se a temperatura para 60°C por 5 horas. O resultante foi tratado com 0,8 mL de uma solução aquosa 6 mol/L de NaOH e adição gota a gota de 0,6 mL de H₂O₂ 35%. A mistura foi agitada por 30 minutos e extraída com hexano. A fase orgânica foi lavada com uma solução saturada de NaCl e seca com Na₂SO₄ anidro. Evaporou-se o solvente sob vácuo. O produto bruto obtido foi purificado em coluna cromatográfica (hexano/éter 9:1), resultando no composto **11a** em 75% ou **11b** em 83% de rendimento.

Composto 11a:

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃, ppm) : 6.36 – 6.12 (m, 2H), 5.45 (dt, *J* = 10.2, 7.3 Hz, 1H), 5.42 (dt, *J* = 10.3, 7.2 Hz, 1H), 4.17 – 3.92 (m, 1H), 3.71 – 3.55 (m, 2H), 3.55 (dd, *J* = 12.2, 6.1 Hz, 2H), 3.50 – 3.34 (m, 4H), 2.30 – 2.06 (m, 2H), 1.81 – 1.50 (m, 8H), 1.44 – 1.14 (m, 16H), 0.99 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃, ppm) : 133.5, 132.1, 123.5, 123.2, 98.8, 67.6, 64.6, 62.2, 30.7, 29.9, 29.8, 29.8, 29.7, 29.7, 29.6, 29.5, 29.5, 29.5, 29.4, 29.4, 29.3, 29.2, 29.2, 29.1, 29.1, 28.5, 27.4, 26.2, 25.8, 25.4, 20.7, 19.6, 14.1.

EM: m/z (%): 41 (15), 43 (8), 55 (22), 67 (37), 68 (10), 69 (8), 79 (12), 81 (17), 82 (21), 83 (9), 85 (100), 95 (18), 96 (12), 101 (13), 266 (2), 332 (2), 350 (1).

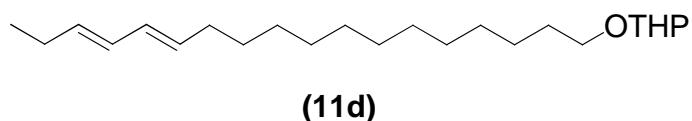
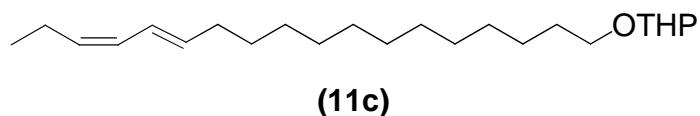
Composto 11b:

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃, ppm) : 6.28 (ddq, *J* = 15.2, 10.8, 1.2 Hz, 1H), 5.95 (t, *J* = 10.8 Hz, 1H),), 5.65 (dt, *J* = 14.8, 6.8 Hz, 1H),), 5.27 (dt, *J* = 10.8, 7.2 Hz, 1H), 4.62 – 4.50 (m, 1H), 3.85 (ddd, *J* = 11.1, 7.5, 3.4 Hz, 2H), 3.71 (dt, *J* = 9.5, 6.9 Hz, 2H), 3.65 – 3.53 (m, 2H), 3.47 (dt, *J* = 13.9, 6.3 Hz, 2H), 3.36 (dt, *J* = 9.5, 6.7 Hz, 2H), 2.18 – 2.02 (m, 2H), 1.94 – 1.77 (m, 4H), 1.77 – 1.63 (m, 4H), 1.62 – 1.47 (m, 4H), 1.45 – 1.08 (m, 10H), 0.99 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃, ppm) : 136.1, 130.2, 128.5, 124.7, 98.8, 67.7, 62.3, 30.8, 29.7, 29.6, 29.6, 29.5, 29.5, 29.5, 27.7, 26.2, 25.8, 25.5, 23.2, 20.7, 19.7, 13.6, 11.5.

EM: m/z (%): 41 (15), 43 (9), 55 (22), 67 (37), 68 (10), 69 (10), 79 (12), 81 (19), 82 (21), 83 (9), 85 (100), 95 (18), 96 (12), 101 (13), 266 (2), 332 (2), 350 (1).

3.9.8. Síntese do composto 11c e 11d ^[38]



Uma solução do composto **10a** ou **10b** (1.5 g, 6.30 mmol) em THF foi adicionada lentamente a uma suspensão de LiAlH_4 (0.23 g, 6.30 mmol) em THF a temperatura ambiente. A mistura em atmosfera inerte foi agitada sob refluxo por 5 h. Em seguida foi adicionado uma solução aquosa de NaOH (0,1 mol/L (10 mL). A reação foi extraída com hexano e a fase orgânica foi lavada com uma solução saturada de NaCl e seca com Na_2SO_4 anidro. Evaporou-se o solvente sob vácuo. O produto bruto obtido foi purificado em coluna cromatográfica (hexano/éter 9:1), resultando no composto **11c** ou **11d** em 61% e 62% de rendimento respectivamente em uma proporção de 3:1 *E,Z:Z,Z* para o composto **11c** e *E,E:Z,E* para o composto **11d**. Os compostos **11c** e **11d** foram sintetizados apenas para fins comparativos e não foram isolados dos seus isômeros.

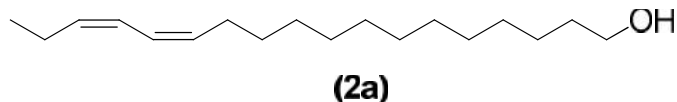
Composto 11c:

EM: m/z (%): 41 (15), 43 (10), 55 (22), 67 (37), 68 (10), 69 (8), 79 (12), 81 (16), 82 (21), 83 (9), 85 (100), 95 (18), 96 (14), 101 (13), 266 (2), 332 (2), 350 (1).

Composto 11d:

EM: m/z (%): 41 (15), 43 (10), 53 (13), 55 (22), 56 (8), 57 (8), 67 (37), 68 (10), 69 (8), 79 (12), 81 (25), 82 (21), 83 (9), 85 (100), 95 (18), 96 (12), 101 (13), 277 (2), 332 (2), 350 (1).

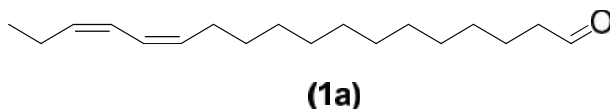
3.9.9. Síntese do composto **2a** e estereoisômeros ^[38]



Preparou-se uma solução contendo 2 mL de metanol e 0,20g (0,57 mmol) do composto **11a** em um balão de fundo redondo, sob agitação magnética. Adicionou-se alguns cristais de *p*-TSA. A mistura foi agitada por 5 horas à temperatura ambiente. Adicionou-se água e extraiu-se com éter etílico. Lavou-se com solução saturada de NaHCO₃ e secou-se com Na₂SO₄ anidro. Evaporou-se o solvente sob vácuo. O produto bruto foi purificado em coluna cromatográfica (hexano/acetato de etila 8:2), resultando no composto **2a** em 81% de rendimento. Para a síntese dos outros estereoisômeros seguiu-se a mesma metodologia.

EM: m/z (%): 41 (34), 43 (11), 53 (7), 54 (11), 55 (41), 67 (100), 68 (36), 69 (16), 77 (7), 79 (31), 80 (15), 81 (50), 82 (76), 83 (13), 93 (16), 94 (11), 95 (47), 96 (37), 97 (10), 109 (14), 110 (11), 121 (10), 266 (7).

3.9.10. Síntese do composto **1a** e estereoisômeros ^[46]

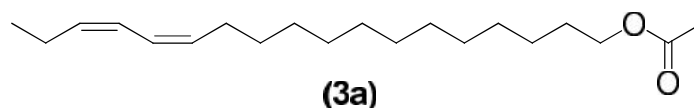


Uma solução em diclorometano do composto **2a** 0,2 g (0,75 mmol) foi adicionada a uma suspensão de clorocromato de piridínio (PCC) 0,5 g, celite 0,5 g e 0,04 g de acetato de sódio em diclorometano. A mistura foi agitada por 3 horas a temperatura ambiente. Após esse período o meio reacional foi filtrado em uma mistura de sílica gel:celite (1:1). Evaporou-se o solvente sob vácuo. O

produto bruto foi purificado em coluna cromatográfica (hexano/acetato de etila 8:2), resultando no composto **1a** em 98% de rendimento. Para a síntese dos outros estereoisômeros seguiu-se a mesma metodologia.

EM: m/z (%): 41 (32), 43 (9), 53 (7), 54 (11), 55 (33), 57 (6), 67 (100), 68 (37), 69 (13), 79 (20), 80 (10), 81 (47), 82 (67), 83 (11), 93 (10), 94 (7), 95 (47), 96 (27), 97 (8), 98 (8), 109 (13), 110 (9), 264 (10).

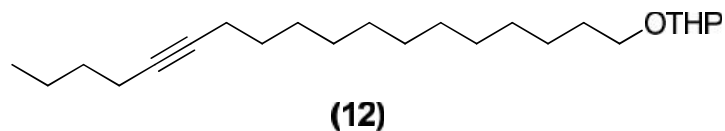
3.9.11. Síntese do composto 3 e estereoisômeros ^[38]



Preparou-se em um balão de fundo redondo uma solução contendo 0,181 mL de piridina, 0,212 mL de anidrido acético e 0,2 g (0,75 mmol) do composto **2a** em diclorometano. A mistura foi agitada por 12 horas sob temperatura ambiente. O resultante foi diluído com éter etílico, lavado água e com uma solução saturada de NaHCO₃. A fase orgânica foi lavada com uma solução saturada de NaCl e seca com Na₂SO₄ anidro. Evaporou-se o solvente sob vácuo. O produto bruto obtido foi purificado em coluna cromatográfica (hexano/éter 9:1), resultando no composto **3a** em 95% de rendimento. Para a síntese dos outros estereoisômeros seguiu-se a mesma metodologia.

EM: m/z (%): 41 (32), 43 (53), 53 (7), 54 (10), 55 (42), 57 (8), 61 (7), 67 (100), 68 (32), 69 (19), 79 (51), 80 (28), 81 (53), 82 (67), 83 (16), 93 (28), 94 (24), 95 (52), 96 (45), 97 (12), 107 (13), 108 (12), 109 (18), 110 (17), 121 (23), 122 (10), 123 (10), 124 (10), 135 (16), 149 (7), 248 (7), 308 (12).

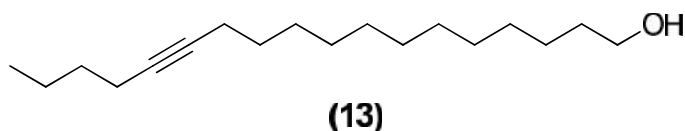
3.9.12. Síntese do composto 12 ^[47]



Em um balão de fundo redondo sob agitação magnética preparou-se uma solução contendo 0,2 g (0,68 mmol) do composto **7** e 2,0 mL de tetrahidrofurano a temperatura ambiente. Resfriou-se a solução a -78 °C e adicionou-se lentamente 0,560 mL (0,88 mmol) de *n*-BuLi (1,57 mol/L). Agitou-se por 30 minutos a temperatura de 0 °C e então adicionou-se 0,162 g (0,88 mmol) de 1-iodobutano juntamente com 0,16 mL de hexametilfosforamida (HMPA) anidro. Agitou-se por mais 8 horas a 0 °C. Diluiu-se em hexano e lavou-se a fase orgânica com água destilada e solução saturada de NaCl. Secou-se com Na₂SO₄ anidro e evaporou-se o solvente sob vácuo. O produto bruto obtido foi purificado em coluna cromatográfica de sílica gel (hexano/acetato de etila 9:1) resultando no composto **12** com 76% de rendimento.

EM: m/z (%): 41 (23), 43 (14), 53 (12), 54 (12), 55 (30), 56 (11), 67 (29), 69 (13), 78 (8), 80 (28), 81 (8), 82 (10), 83 (10), 85 (100), 94 (18), 95 (13), 101 (36), 293 (2), 350 (1).

3.9.13. Síntese do composto 13 ^[38]



Preparou-se uma solução contendo 1,0 mL de metanol e 0,1 g (0,285 mmol) do composto **12** em um balão de fundo redondo, sob agitação magnética. Adicionou-se alguns cristais de *p*-TSA. A mistura foi agitada por 5

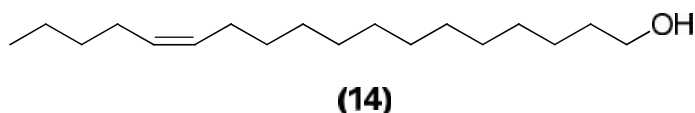
horas sob temperatura ambiente. Adicionou-se água e extraiu-se com éter etílico. Lavou-se com solução saturada de NaHCO_3 e secou-se com Na_2SO_4 anidro. Evaporou-se o solvente sob vácuo. O produto bruto foi purificado em coluna cromatográfica (hexano/acetato de etila 8:2), resultando no composto **14** em 95% de rendimento.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3 , ppm) : 3.63 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 2.32 – 2.02 (m, 4H), 1.81 – 1.13 (m, 24H), 0.99 (t, $J = 6.4$ Hz, 3H).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , ppm) : 80.1, 80.0, 63.0, 32.7, 31.2, 29.5, 29.4, 29.1, 28.8, 25.7, 21.8, 18.7, 18.4, 13.5.

EM: m/z (%): 41 (34), 43 (14), 53 (9), 54 (43), 55 (52), 67 (66), 68 (28), 69 (20), 79 (22), 80 (10), 81 (100), 82 (33), 83 (10), 93 (13), 95 (43), 96 (95), 97 (12), 109 (11), 110 (24), 121 (2), 135 (2), 266 (0.5).

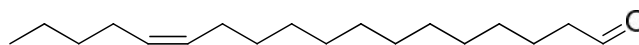
3.9.14. Síntese do composto **14** ^[48]



Adicionou-se a um reator de hidrogenação 0,05 g (0,188 mmol) do composto **13**, 2,0 mL de metanol, cerca de 5 mg de Pd/CaCO_3 e 5 mg de quinolina. O meio reacional foi submetido à atmosfera de hidrogênio (10 atm) sob temperatura ambiente em um reator Parr® (modelo 3910). Após 2 horas de agitação filtrou-se a mistura com auxílio de um papel filtro e evaporou-se o metanol. Diluiu-se em hexano e a fase orgânica foi lavada com água destilada e seca com Na_2O_4 anidro. Evaporou-se o solvente sob vácuo e purificou-se em coluna cromatográfica de sílica gel (hexano/acetato de etila 8:2), resultando no composto **14** com 85 % de rendimento.

EM: m/z (%): 41 (47), 43 (23), 54 (25), 55 (100), 56 (19), 57 (18), 67 (51), 68 (39), 69 (50), 70 (12), 71 (7), 81 (59), 82 (78), 83 (35), 95 (43), 96 (64), 97 (24), 109 (20), 110 (21), 123 (12), 124 (13), 138 (8), 250 (5).

3.9.15. Síntese do composto 15 ^[46]

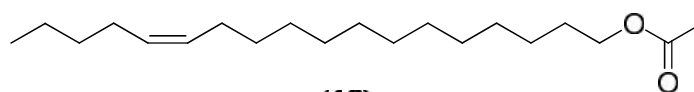


(15)

Uma solução em diclorometano do composto **14** 0,01 g (0,037 mmol) foi adicionada a uma suspensão de clorocromato de piridínio (PCC) 0,025 g, celite 0,025 g e 0,002 g de acetato de sódio em diclorometano. A mistura foi agitada por 3 horas a temperatura ambiente. Após esse período o meio reacional foi filtrado em uma mistura de sílica gel:celite (1:1). Evaporou-se o solvente sob vácuo. O produto bruto foi purificado em coluna cromatográfica (hexano/acetato de etila 8:2), resultando no composto **15** em 90% de rendimento.

EM: m/z (%): 41 (53), 43 (27), 54 (17), 55 (100), 56 (24), 57 (25), 67 (42), 68 (20), 69 (53), 70 (24), 71 (11), 79 (10), 81 (39), 82 (34), 83 (36), 84 (18), 93 (9), 95 (33), 96 (30), 97 (29), 98 (33), 109 (15), 110 (11), 111 (16), 121 (15), 135 (8), 248 (4), 266 (1).

3.9.16. Síntese do composto 16 ^[38]



(16)

Preparou-se em um balão de fundo redondo uma solução contendo 0,010 mL de piridina, 0,010 mL de anidrido acético e 0,01 g (0,037 mmol) do composto **14** em diclorometano. A mistura foi agitada por 12 horas à temperatura ambiente. O resultante foi diluído com éter etílico, lavado água e com uma solução saturada de NaHCO₃. A fase orgânica foi lavada com uma solução saturada de NaCl e seca com Na₂SO₄ anidro. Evaporou-se o solvente sob vácuo. O produto bruto obtido foi purificado em coluna cromatográfica (hexano/éter 9:1), resultando no composto **16** em 96% de rendimento.

EM: m/z (%): 41 (52), 42 (10), 43 (88), 54 (30), 55 (100), 56 (20), 57 (65), 61 (13), 67 (57), 68 (41), 69 (48), 70 (13), 71 (41), 81 (70), 82 (93), 83 (39), 85 (29), 95 (50), 96 (84), 97 (31), 99 (12), 109 (24), 110 (30), 111 (11), 123 (16), 137 (10), 138 (14), 250 (15), 310 (1).

3.10. Teste de Campo

O experimento de campo foi conduzido juntamente com a EMBRAPA FLORESTA em um plantio de erva mate em São Mateus do Sul, Paraná. Os compostos sintéticos em diferentes combinações foram impregnados em septos de borracha (10 mm O.D. - 18 mm, Aldrich Chemical Co., Milwaukee, WI). Cada septo recebeu uma mistura de 0,1 e 1,0 mg dos compostos majoritários e os demais compostos com suas proporções como previamente encontrado no extrato natural extraído das glândulas de *Thelosia camina*. Esses compostos foram dissolvidos em 150 µL de hexano. O experimento constou de 4 tratamentos em duplicata: (a) somente o composto majoritário **3a**; (b) somente os compostos majoritários **1a**, **2a** e **3a**; (c) mistura de todos os isômeros dos compostos **1a**, **1b**, **1c**, **2a**, **2b**, **2c**, **3a**, **3b** e **3c**; (d) mistura de todos os compostos que compõem a mistura feromonal de *Thelosia camina* (**1a**, **1b**, **1c**, **2a**, **2b**, **2c**, **3a**, **3b**, **3c**, **15** e **16**) e (e) somente hexano como controle. Os septos contendo os atrativos foram colocados em armadilhas tipo “Delta” (Biocontrole®) posicionadas um metro e meio de altura ao nível do solo presas aos galhos da planta de erva mate. As armadilhas foram distribuídas em blocos ao acaso, sendo a distância entre elas de 10 m e entre os blocos de no mínimo 30 m. As armadilhas permaneceram no campo durante o período de 20 de novembro a 21 de dezembro de 2014 e a vistoria das mesmas foi realizada duas vezes por semana.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Determinação dos componentes bioativos presentes nos extratos de *Thelosia camina*

Os testes com antenas de machos de *T. camina* foram realizados para verificar quais compostos químicos presentes nos extratos de glândulas de feromônio sexual de fêmeas promoveriam resposta antenal. Ao submeter antenas de machos ao detector eletroantenográfico acoplado a cromatografia gasosa, frente ao extrato de glândulas feromonais de fêmeas, foi verificado que se tratava de um feromônio multicomponente onde foi possível observar respostas para nove diferentes compostos sendo desses três compostos majoritários e outros seis compostos minoritários (Figura 11 e Figura 12). As respostas bioativadas das antenas se repetiram em todas as análises realizadas.

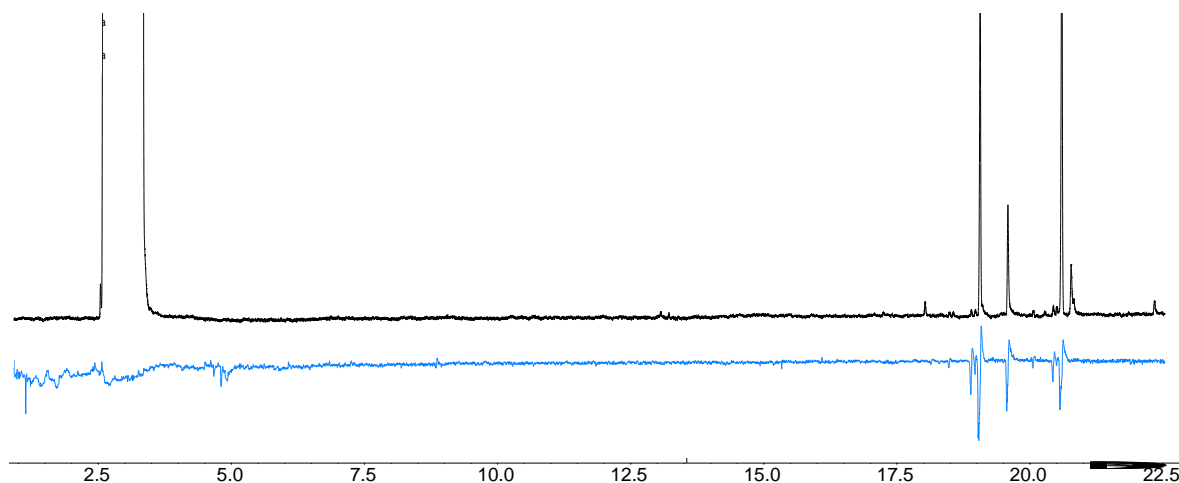


Figura 11. Resposta de antenas de machos de *T. camina* no CG-EAD aos compostos presentes nos extratos de glândulas de feromônio sexual de fêmeas. A linha inferior representa os sinais obtidos da antena do macho e a linha superior representa os compostos presentes no extrato de glândulas de fêmeas.

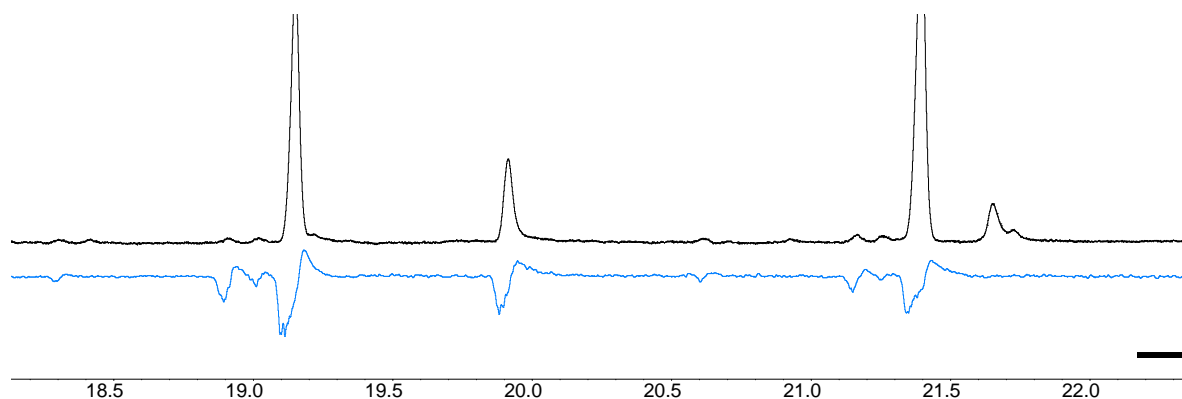


Figura 12. Ampliação do eletroantenograma no tempo de retenção de 18 a 23 minutos.

Após se saber quantos compostos faziam parte da mistura feromonal, o passo seguinte foi descobrir a estrutura química de cada um desses compostos. O principal método utilizado para esse fim foi à análise do extrato por cromatografia de fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM), associada ao Índice de retenção de Kovats, amplamente utilizado em cromatografia de fase gasosa para converter um tempo de retenção em uma constante reprodutível em outros sistemas cromatográficos que consistam do mesmo tipo de fase estacionária ^[33,34]. Através do cálculo dos índices de Kovats das respostas eletroantenográficas, foi possível localizar quais eram os picos correspondentes em CG-EM (Figura 13).

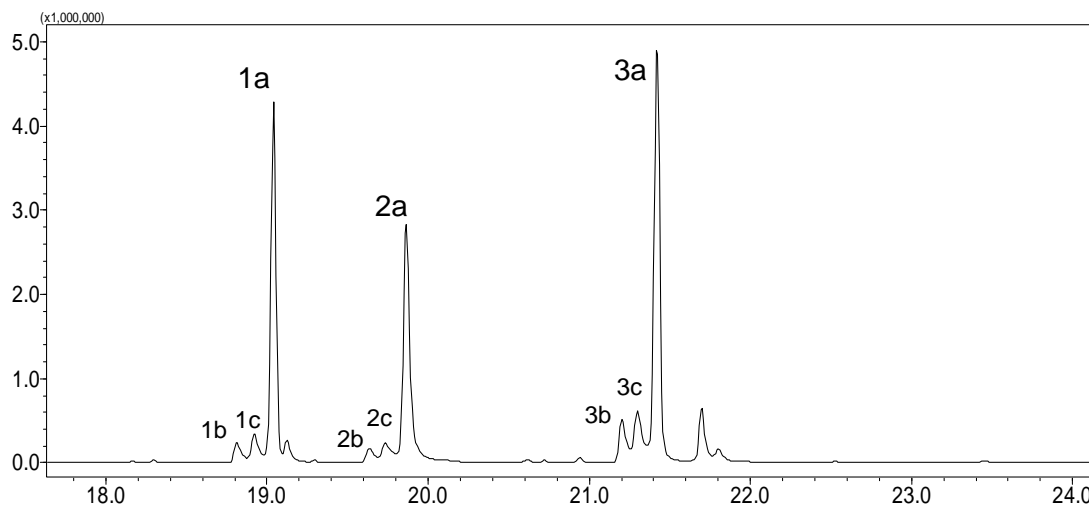


Figura 13. Cromatograma do extrato das glândulas de fêmeas de *T. camina* (temperatura do forno a 50°C aumentada para 250°C a uma taxa de 7°C min⁻¹, sendo mantida nesta temperatura por 10 min).

Para a determinação do Índice de Kovats para cada um dos compostos identificados no extrato das glândulas de fêmeas (Tabela 1) foram utilizados padrões de hidrocarbonetos lineares com 10 a 26 carbonos na sua cadeia.

Tabela 1. Índices de Kovats dos compostos majoritários das glândulas de fêmeas em coluna RTX-5.

| Composto | Índice de Kovats |
|----------|------------------|
| 1a | 2081 |
| 2a | 2143 |
| 3a | 2269 |

4.2. Identificação estrutural dos componentes majoritários encontrados nos extratos das glândulas de fêmeas de *T. camina*

A elucidação estrutural dos componentes majoritários foi baseada na comparação do perfil de fragmentação de cada um desses compostos com o da literatura bem como seus respectivos Índices de Kovats e dados espectroscópicos obtidos por CG-IV. O espectro de massas referente ao composto **1a**, apresenta um pico do íon molecular (M^+) com valor de m/z 264Da, sugerindo que a fórmula molecular deste composto seria $C_{18}H_{32}O$ (Figura 14). A leitura dos fragmentos do espectro da esquerda para a direita observa-se um aumento sequencial de 14 unidades de massa (CH_2), acompanhada da diminuição da intensidade dos fragmentos, o que sugere uma linearidade na cadeia carbônica. A presença do íon fragmento m/z 235Da ($M - 29$) referente à perda de $CHO\cdot$ sugere a presença de um grupo aldeído na cadeia. O grau de insaturação da molécula sugere a presença de duas ligações duplas C-C.

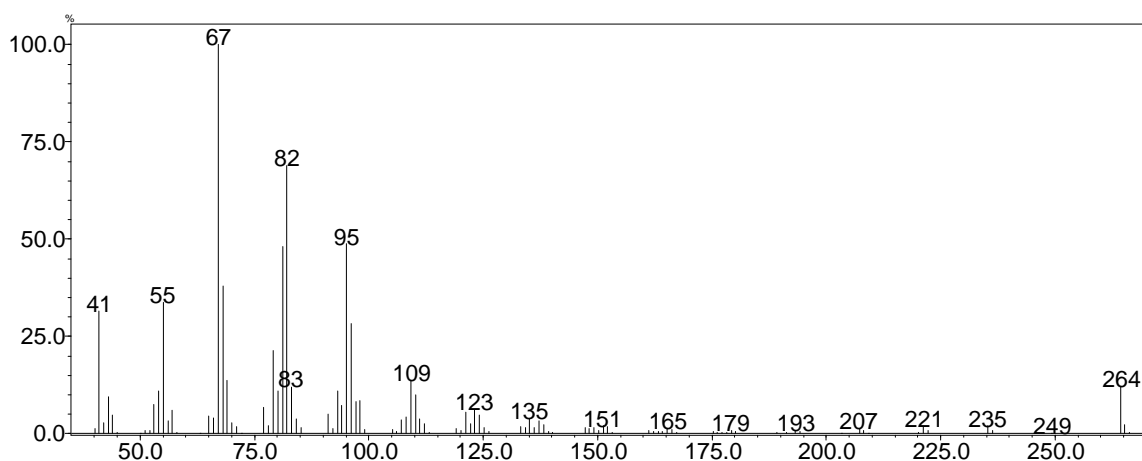


Figura 14. Espectro de massas referente ao composto **1a**.

Através do uso da técnica de CG-IV pode-se observar no espectro de infravermelho obtido para o composto **1a** (Figura 15), a presença das bandas características de deformação axial de C=O em 1715 cm^{-1} e de estiramento C-H de aldeído em 2731 cm^{-1} . Destacam-se ainda duas bandas em 3041 e 3009 cm^{-1} relativas à deformação axial de C-H em =C-H. As bandas de deformação axial de C-H em alcenos de configuração *Z* ou *E* ocorrem usualmente na região de $3008\text{-}3013\text{ cm}^{-1}$ e $2933\text{-}2940\text{ cm}^{-1}$, respectivamente. Entretanto, em alcadienos conjugados com ligações duplas *E,Z* ou *Z,E*, ocorre um efeito hipsocrômico e ambas as bandas de deformação axial passam a ocorrer acima de 3000 cm^{-1} [49-51].

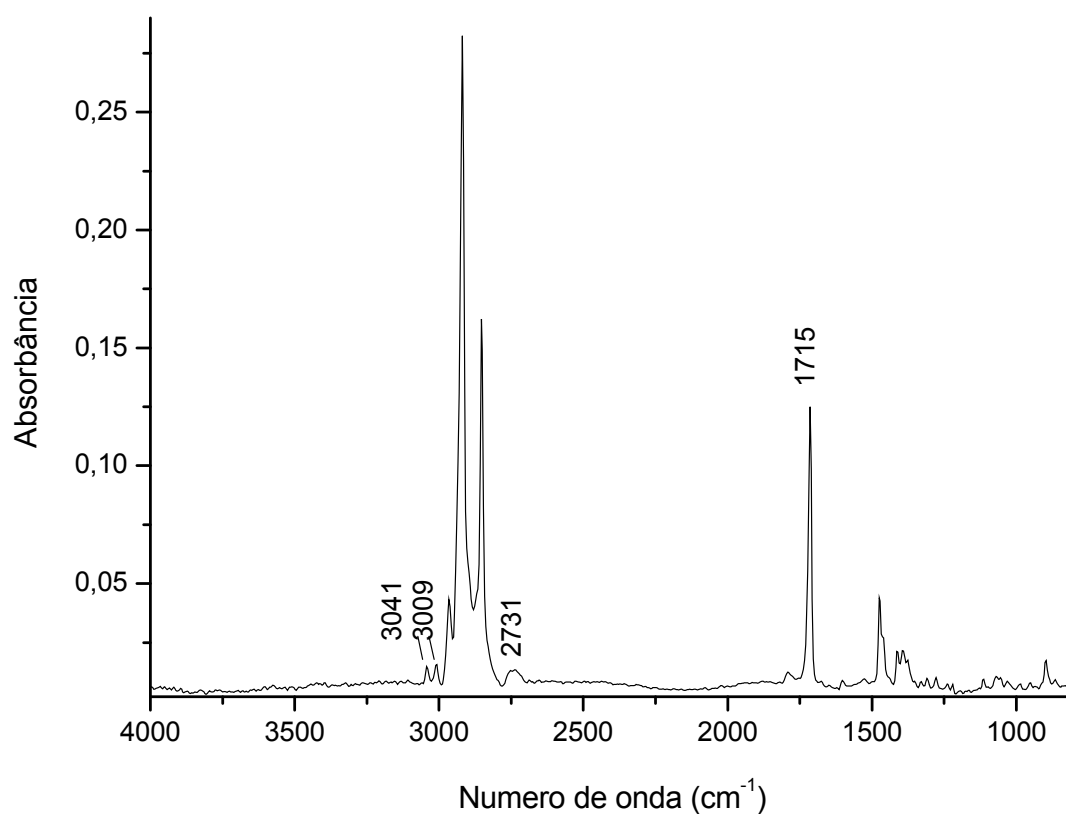


Figura 15. Espectro de infravermelho do componente natural **1a**.

Segundo Attygalle, alcadienos conjugados também apresentam bandas características na região de 990 a 940 cm^{-1} , essas bandas são como uma “impressão digital” para esses compostos [52]. Alcadienos conjugados com isomeria *E,E* possuem uma única banda mais intensa nessa região próximo a 970 cm^{-1} , os alcadienos conjugados com isomeria *E,Z* e *Z,E* apresentam duas bandas menores nessa região, já o isômero *Z,Z* não apresenta nenhuma banda nessa região (990 a 940 cm^{-1}) possibilitando assim a identificação de cada um dos estereoisômeros como mostra a Figura 16 [52,53].

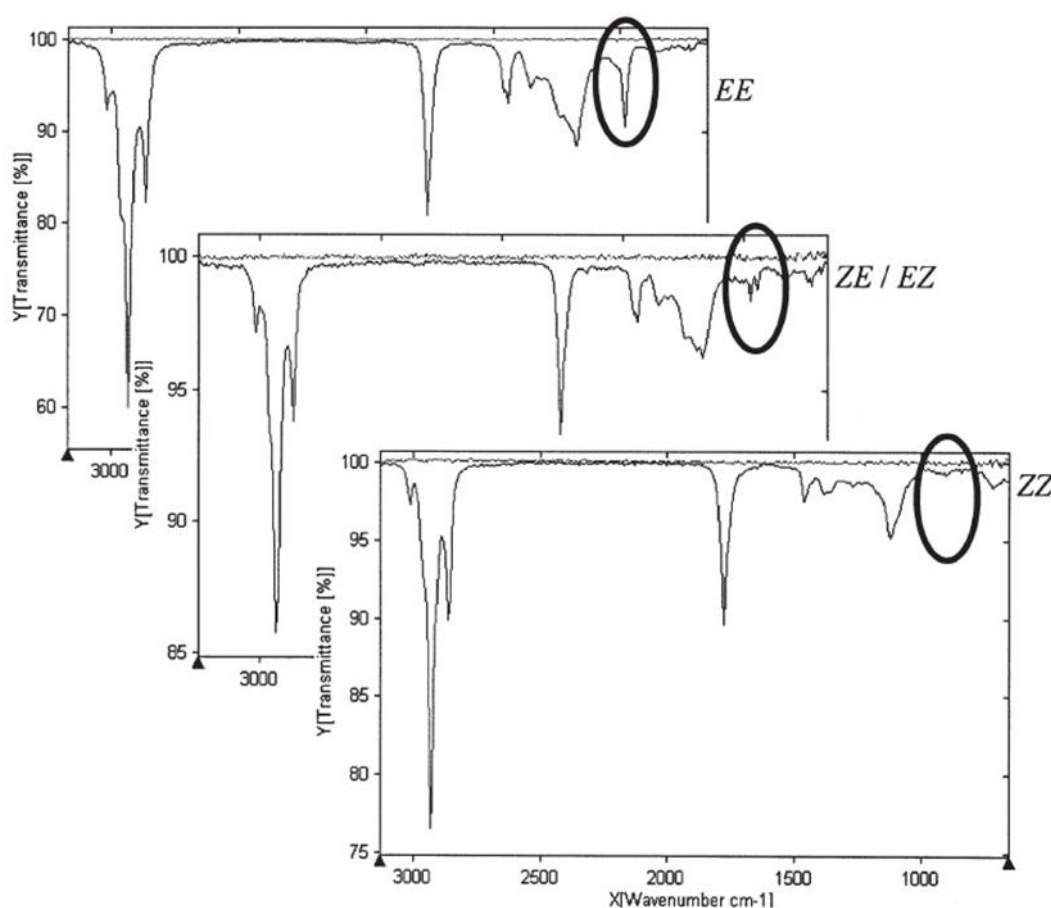


Figura 16. Espectros de infravermelhos de alcadienos conjugados (figura de Kellersmann, 2006) [53].

Com base nessas informações, ao analisarmos o espectro de infravermelho do componente majoritário **1a** na região de 990 a 940 cm^{-1} podemos notar que não existe nenhuma banda nessa região sugerindo assim um sistema conjugado *Z,Z*. Portanto, para o componente majoritário **1a** com as informações obtidas até o momento sugere um aldeído de cadeia linear com dezoito átomos de carbono e um sistema conjugado com isomeria *Z,Z*.

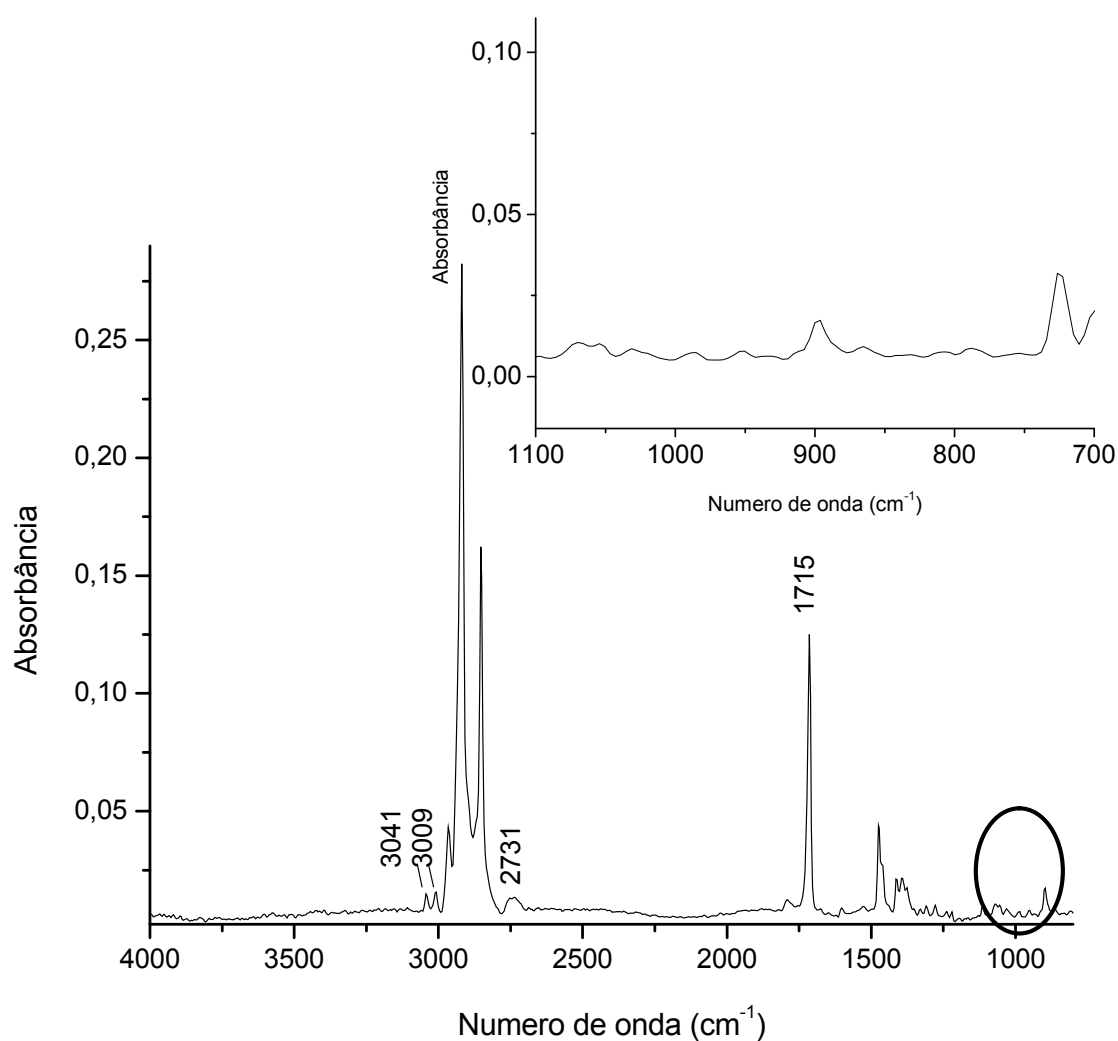


Figura 17. Espectro de infravermelho do componente natural **1a** com expansão na região de 990 a 940 cm^{-1} .

O mesmo pode ser observado para os compostos **2a** e **3a** onde seus respectivos espectros de infravermelho não apresentam nenhuma banda na região de 990 a 940 cm^{-1} também sugerindo um sistema conjugado *Z,Z*, que pode ser confirmado pelas duas bandas de deformação axial de C-H em $=\text{C-H}$ em 3041 e 3008 cm^{-1} . Evidenciando a presença de ligações duplas de alcadienos conjugados para o composto **2a** e em 3040 e 3007 cm^{-1} para o composto **3a**. Além disso, foi identificada a presença da banda característica de álcoois (O-H) em 3283 cm^{-1} no espectro de infravermelho do composto **2a** (Figura 18) e a presença das bandas características de ésteres da deformação axial de C=O em 1744 cm^{-1} e do estiramento C-O em 1255 cm^{-1} para composto **3a** (Figura 19).

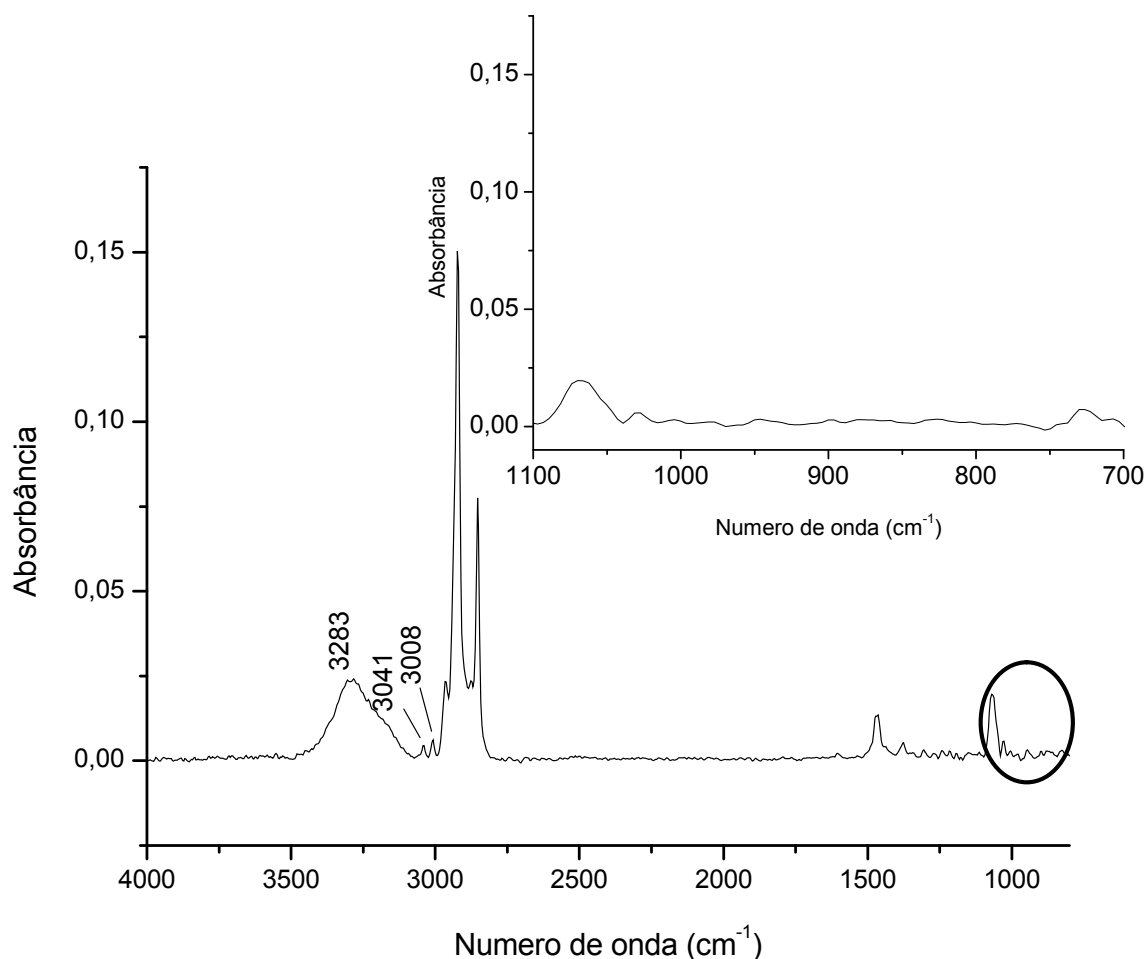


Figura 18. Espectro de infravermelho do componente natural **2a** com expansão da região de 1100 a 700 cm^{-1} .

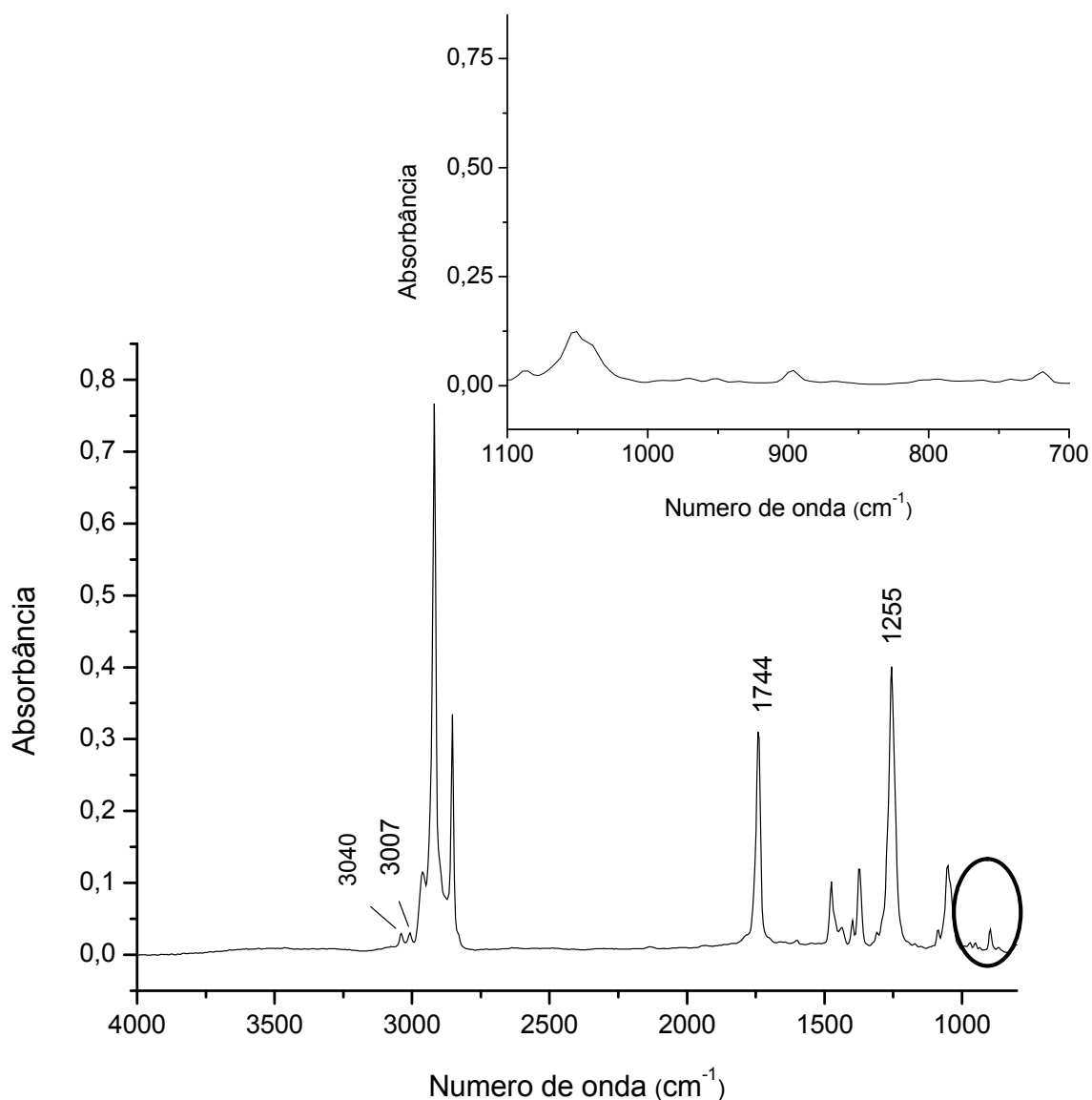


Figura 19. Espectro de infravermelho do componente natural **3a** com expansão da região de 1100 a 700 cm⁻¹.

Esses compostos também foram caracterizados por espectrometria de massas, onde o espectro de massas referente ao composto **2a** (Figura 20), apresenta um pico do íon molecular (M⁺) com valor de m/z 266Da, e a

presença do fragmento m/z 248Da ($M^+ -18$) referente à perda de H_2O sugerindo a presença da função álcool na cadeia com fórmula molecular $C_{18}H_{34}O$. O grau de insaturação da molécula sugere a presença de duas ligações duplas C-C e a fragmentação característica de cadeias carbônicas lineares, observado pelo aumento sequencial de 14 unidades de massa (CH_2), acompanhada da diminuição da intensidade desses fragmentos, indicam uma estrutura linear para a molécula.

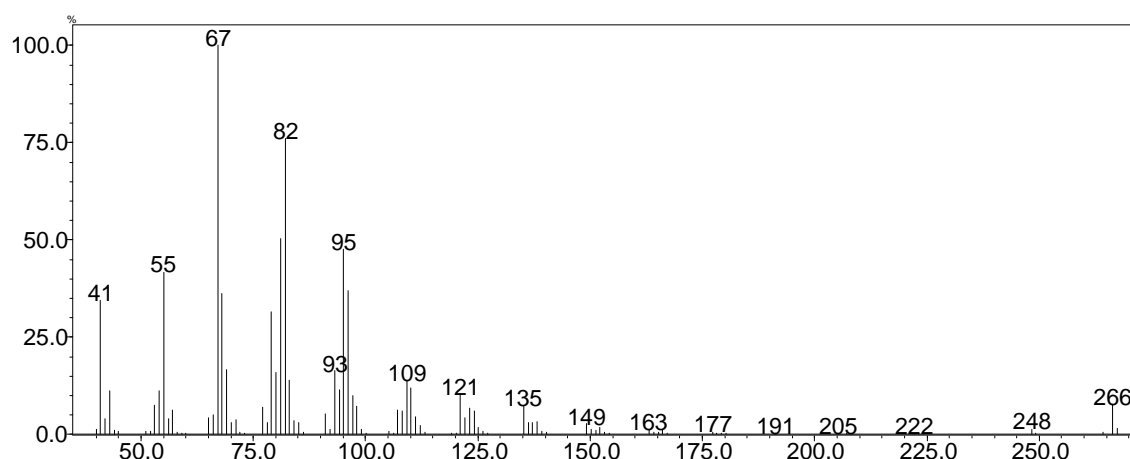


Figura 20. Espectro de massas do componente natural **2a**.

Para o composto **3a** (Figura 21), o espectro de massas apresenta um pico do íon molecular (M^+) com valor de m/z 308Da, um fragmento m/z 248Da ($M -60$) referente à perda de ácido acético e um fragmento intenso com valor de m/z 43Da sugerindo a presença do grupo acetila na cadeia carbônica e uma fórmula molecular $C_{20}H_{36}O_2$. A leitura dos fragmentos do espectro da esquerda para a direita observa-se um aumento sequencial de 14 unidades de massa (CH_2), acompanhada da diminuição da intensidade dos fragmentos, caracteriza uma linearidade na cadeia carbônica e o grau de insaturação da molécula sugere a presença de três ligações duplas.

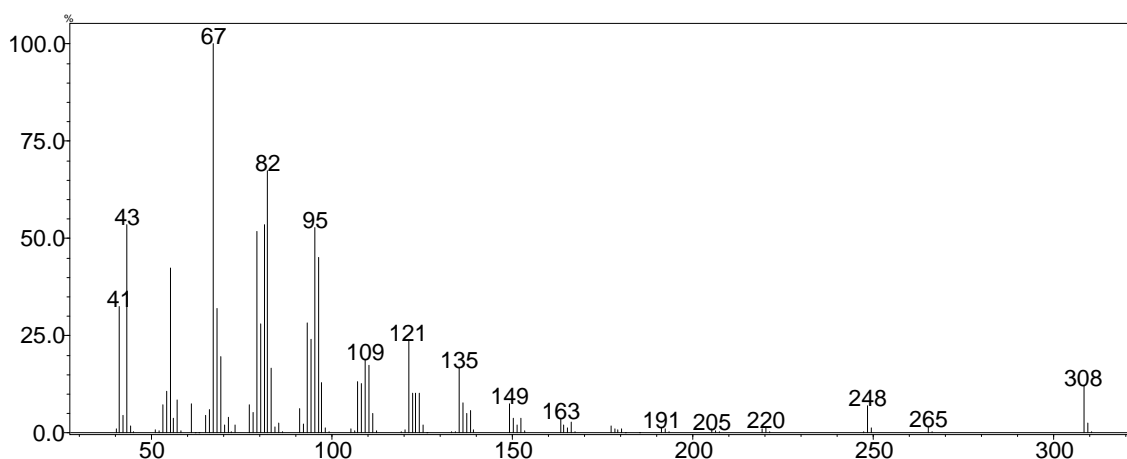
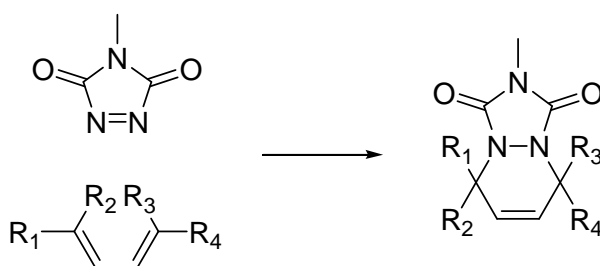


Figura 21. Espectro de massas do componente natural **3a**.

Portanto, até o momento foram identificadas as estruturas dos componentes majoritários como sendo um aldeído, um álcool e um éster de cadeia linear com 18 átomos de carbono na cadeia principal e um sistema conjugado com isomeria *Z,Z* faltando apenas a identificação da posição desse sistema conjugado.

Um método muito utilizado para a localização da posição de ligações duplas conjugadas é a cicloadição de Diels-Alder que consiste na adição do 4-metil-1,2,4-triazolina-3,5-diona (MTAD), a um dieno capaz de formar cicloadutos de Diels-Alder ^[35,51-54] (Esquema 3).



Esquema 3. Cicloadição de Diels-Alder empregando-se MTAD como dienófilo.

Essa técnica permite a identificação da posição do sistema conjugado observando o espectro de massas dos cicloadutos formados, que usualmente exibem fragmentos característicos da posição das ligações duplas no dieno parental ^[54], como no exemplo discutido por Attygalle, mostrado na Figura 22, onde os fragmentos m/z 194 e 364Da, representam as perdas das respectivas cadeias laterais ligadas ao anel de seis membros, mostrando que no dieno parental as ligações duplas estavam localizadas nas posições 11 e 13 ^[35].

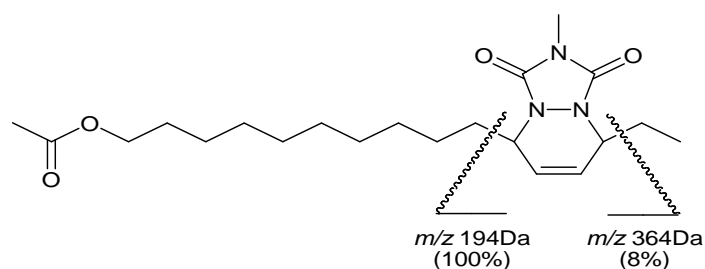


Figura 22. Aduto formado pela adição de MTAD ao acetato de (11*E*, 13*E*)-hexadeca-11,13-dienila.

Realizou-se então a reação de adição de MTAD a mistura feromonal (extrato das glândulas) de fêmeas de *T.camina*, no intuito de verificar o padrão de fragmentação do produto formado. Nos espectros de massas apresentados nas Figuras 23 e 24 pode-se observar a presença dos picos dos íons moleculares com m/z 377Da e m/z 421Da (M^+) respectivamente e na presença dos fragmentos 194Da e 348Da do aldeído (composto **1a**) e 194Da e 392Da do éster (composto **3a**), referentes às fragmentações nos carbonos ligados diretamente ao cicloaduto. Estes fragmentos comprovam que no dieno que originou o aduto, as ligações duplas estavam posicionadas nos carbonos 13 e 15.

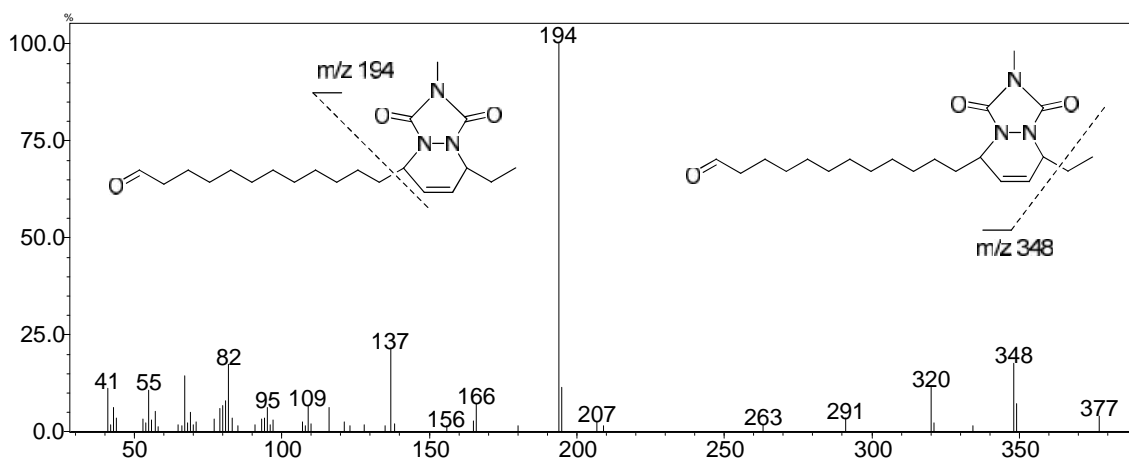


Figura 23. Espectro de massas do derivado de MTAD formado pela reação com o aldeído (composto **1a**) presente no extrato de *T. camina*.

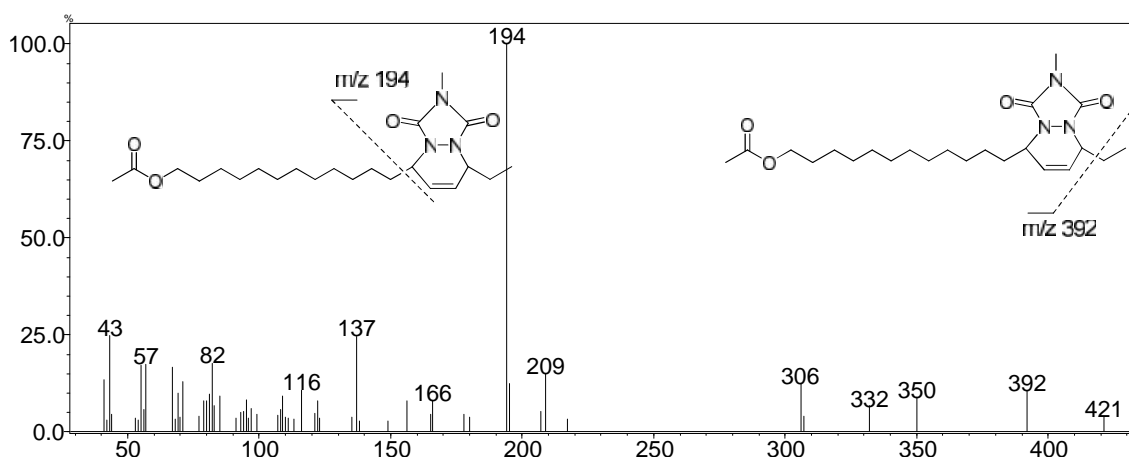


Figura 24. Espectro de massas do derivado de MTAD formado pela reação com o éster (composto **3a**) presente no extrato de *T. camina*.

A análise do produto da reação com MTAD permitiu a localização da posição exata das ligações duplas conjugadas dos compostos majoritários presentes no extrato das glândulas de fêmeas de *T. camina*.

Através de vários estudos realizados na literatura e com base nos resultados dos cicloadutos de MTAD, dados espectroscópicos de CG-EM e CG-IV e dos Índices de Kovats obtidos para os componentes do extrato das glândulas de fêmeas de *Thelosia camina*, foram proposta três estruturas para

esses compostos: a primeira estrutura seria um aldeído com cadeia linear de 18 carbonos e ligações duplas conjugadas nas posições 13,15 com isomeria Z,Z (Índice de Kovats 2081), o segundo segue o mesmo esqueleto carbônico mas com um álcool como grupo funcional (Índice de Kovats 2143) e o mesmo ocorre para o terceiro composto, um éster com cadeia linear com 18 carbonos e um sistema conjugado com isomeria Z,Z nas posições 13,15 (Índice de Kovats 2269) (Figura 25).

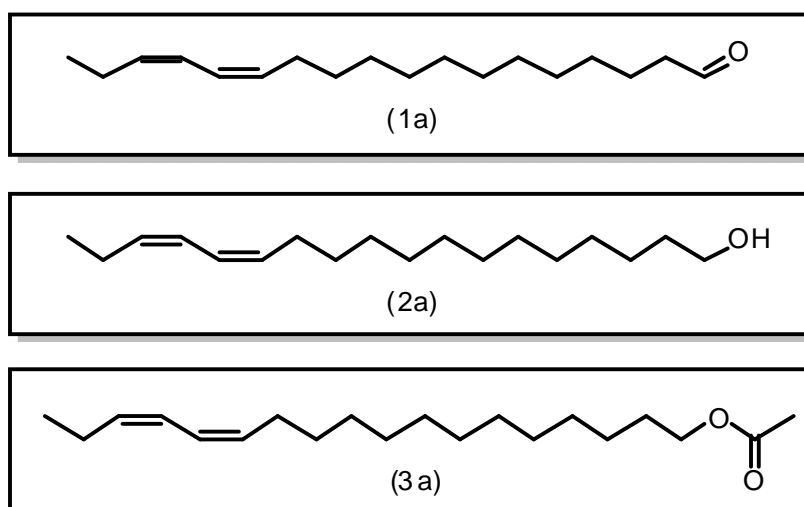


Figura 25. Estruturas proposta para os componentes majoritários de *T. camina* ((13Z, 15Z)-octadeca-13,15-dienal **(1a)**, (13Z, 15Z)-octadeca-13,15-dien-1-ol **(2a)**, acetato de (13Z, 15Z)-octadeca-13,15-dien-1-ila **(3a)**).

Se levarmos em consideração que estes compostos foram sintetizados pela rota do acetato, partindo de ácidos graxos saturados construídos a partir da aceil-CoA e malonil-CoA até a formação do esqueleto de 18 átomos de carbono na cadeia principal, e inserções de instaurações com enzimas - desaturases, os outros compostos da mistura feromonal que também apresentaram respostas antenais, possam ser isômeros dos respectivos compostos majoritários **1a**, **2a** e **3a**. Levando em consideração essa hipótese e analisando os dados espectroscópicos e os seus respectivos Índice de Kovats (Tabela 2), concluímos que apenas três dos quatro possíveis isômeros

possuem respostas bioativas, contudo não foi possível identificar quais os isômeros fazem parte da mistura feromonal sendo assim necessária a síntese dos quatro possíveis isômeros do álcool, aldeído e do acetato chegando assim no total de doze compostos a serem sintetizados (Figura 26).

Tabela 2. Índices de Kovats dos compostos isômeros minoritários das glândulas de fêmeas em coluna RTX-5.

| Compostos | Índice de Kovats |
|-----------|------------------|
| 1b, 1c | 2064, 2072 |
| 2b, 2c | 2125, 2133 |
| 3b, 3c | 2250, 2258 |

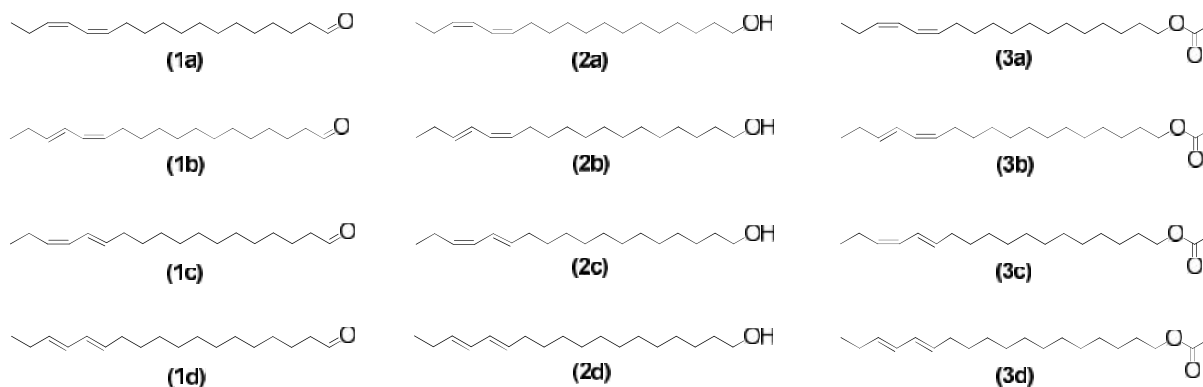


Figura 26. Estruturas propostas para os isômeros do aldeído, do álcool e do éster identificados como possíveis componentes da mistura feromonal de *T. camina*.

Além dos compostos identificados outros compostos também apresentaram respostas bioativas identificados com Índices de Kovats (IK) 2018 e 2202 como mostram as figura 27 e 28.

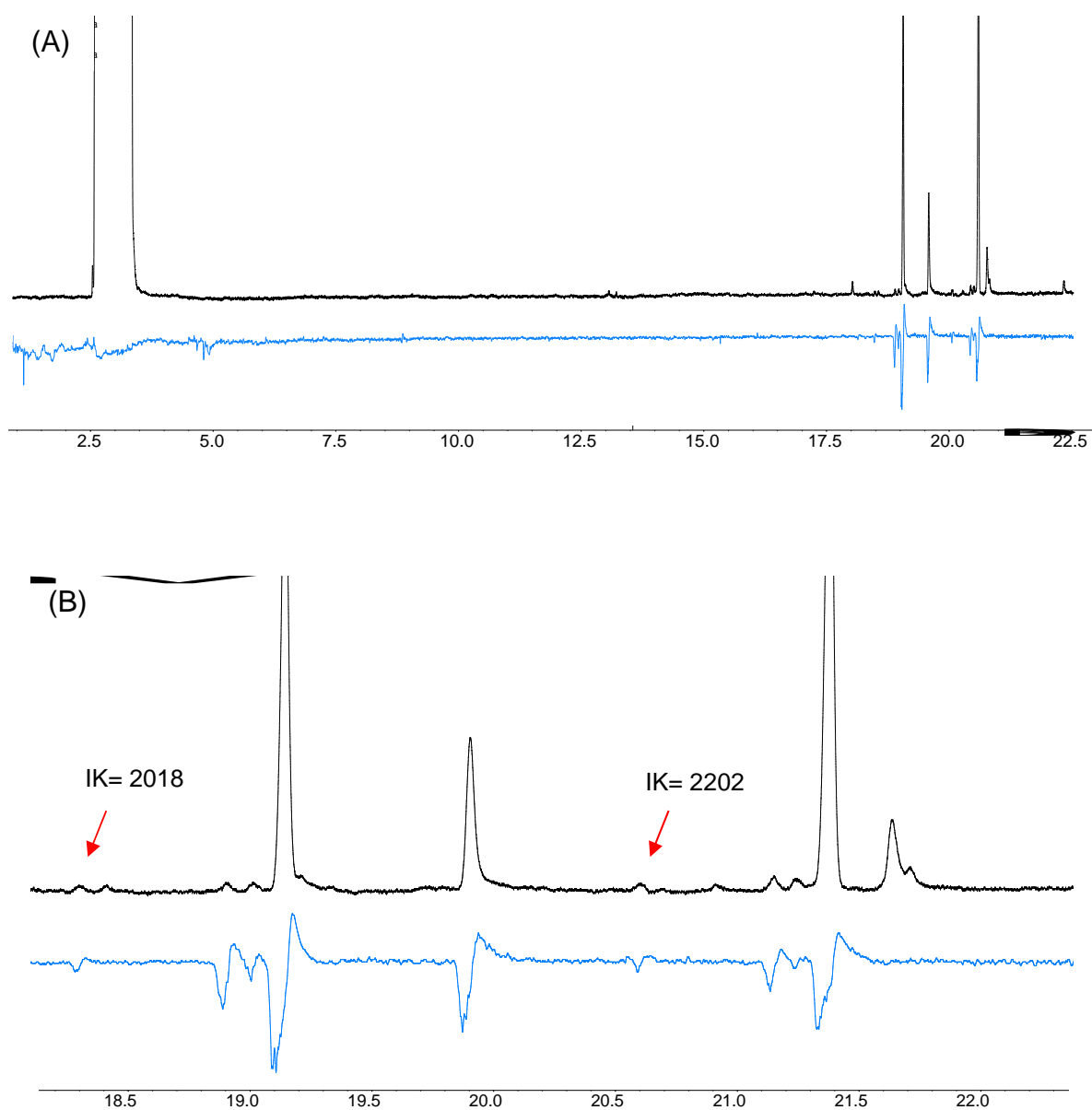


Figura 27. (A) Perfil Cromatográfico e respostas bioativas das antenas de machos de *T. camina* no CG-EAD e Ampliação do eletroantenograma no tempo de retenção de 18 a 23 minutos.

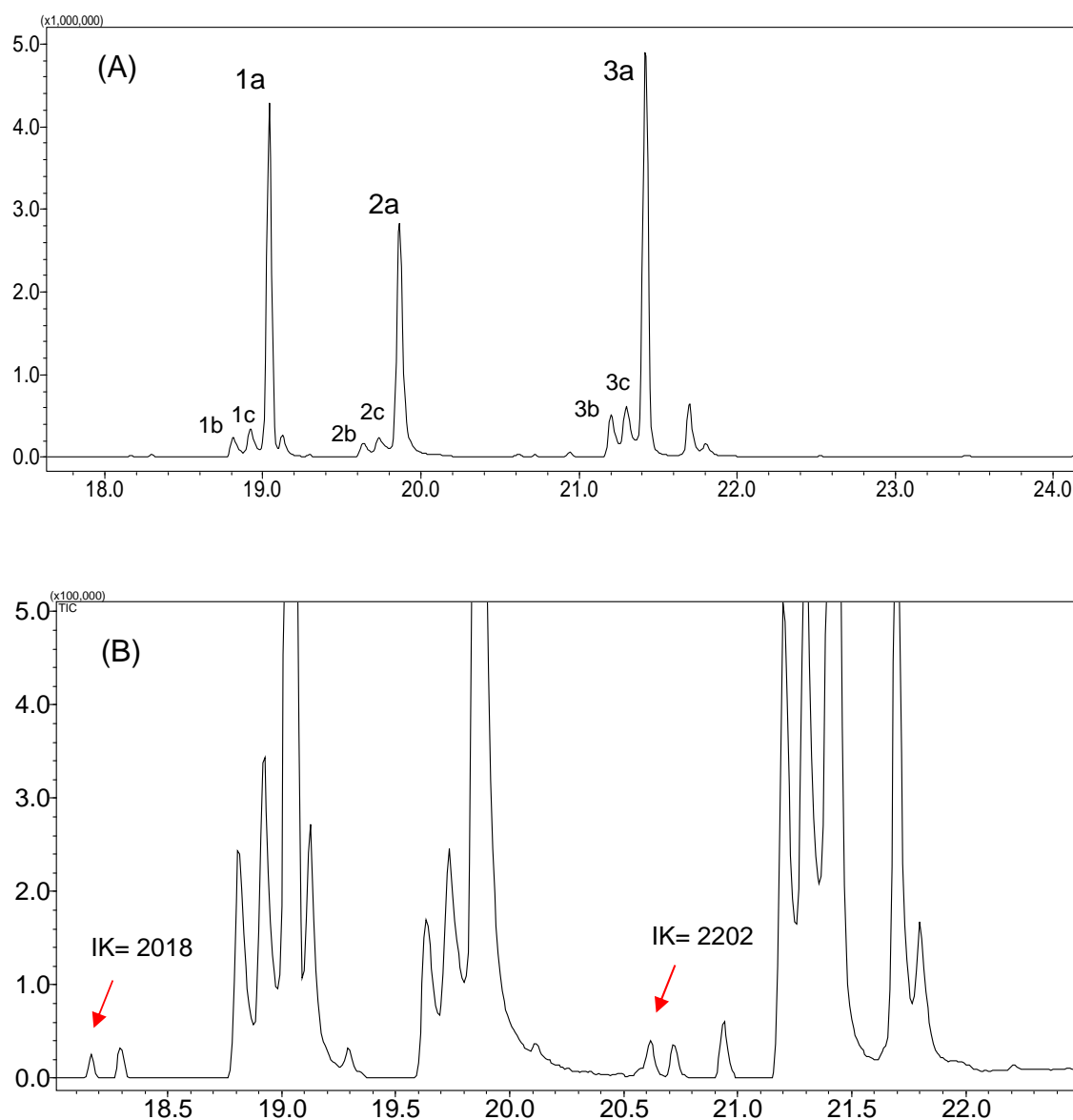


Figura 28. (A) Cromatograma do extrato das glândulas de fêmeas de *T. camina* na região de 18 a 23 minutos e (B) Ampliação do cromatograma identificando outros os compostos com respostas bioativas (temperatura do forno a 50°C aumentada para 250°C a uma taxa de 7°C/min).

Se pensarmos na biossíntese dos compostos e comparando os Índices de Kovats desses compostos com os relatados na literatura ^[33,34], chegamos à conclusão que poderiam se tratar de compostos similares aos identificados anteriormente, mas agora com apenas uma inserção de insaturação localizada na posição 13, produzindo alcenos com isomeria *Z*. Sendo assim esses dois compostos podem se tratar de um aldeído e um éster respectivamente, ambos com cadeia longa, maior que 16 átomos de carbono.

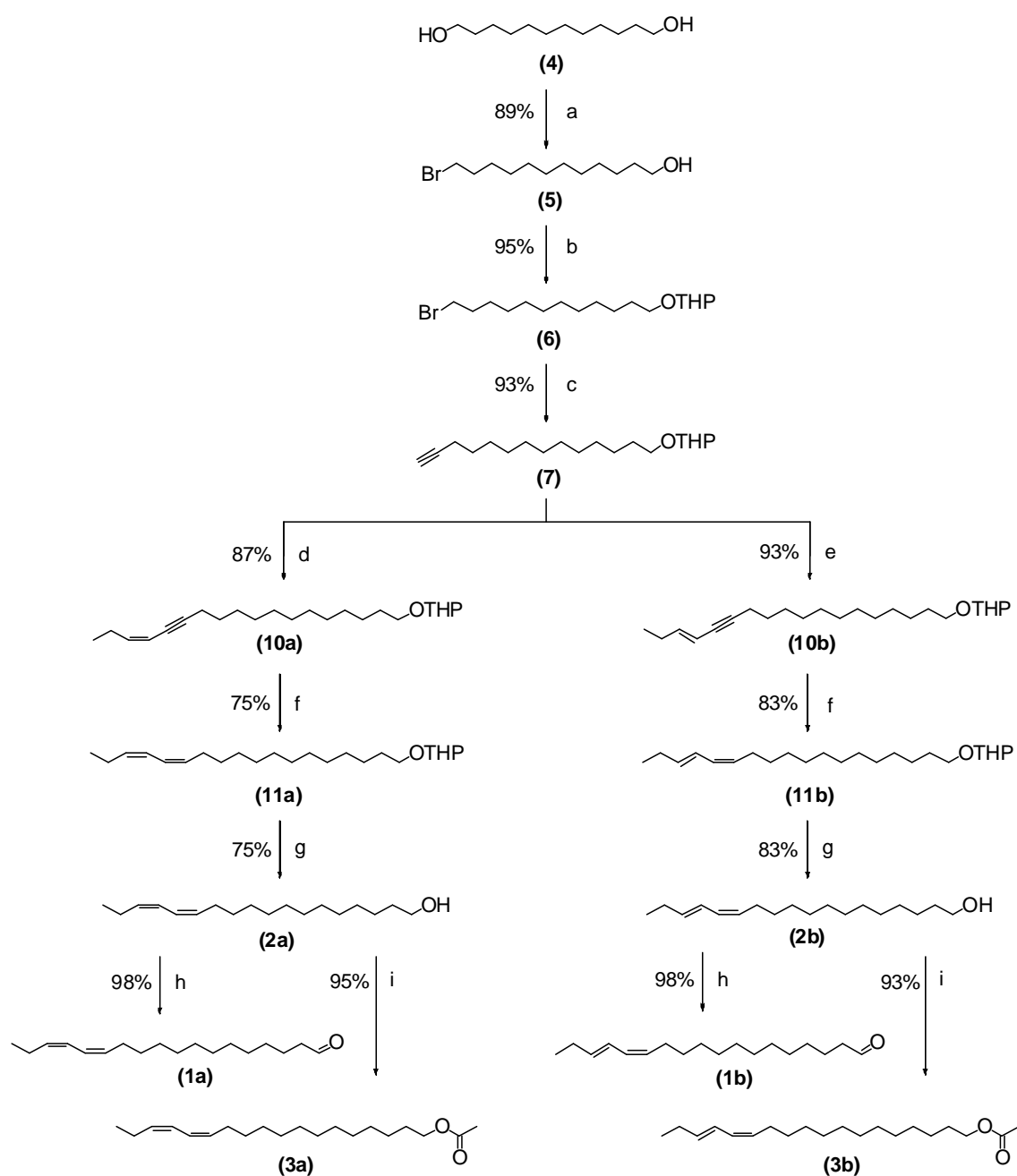
Esses compostos foram identificados e tiveram suas estruturas definidas como sendo o (*Z*)-13-octadecenal **(15)** e o (*Z*)-13-octadecen-1-ol acetato **(16)** respectivamente (Figura 29).



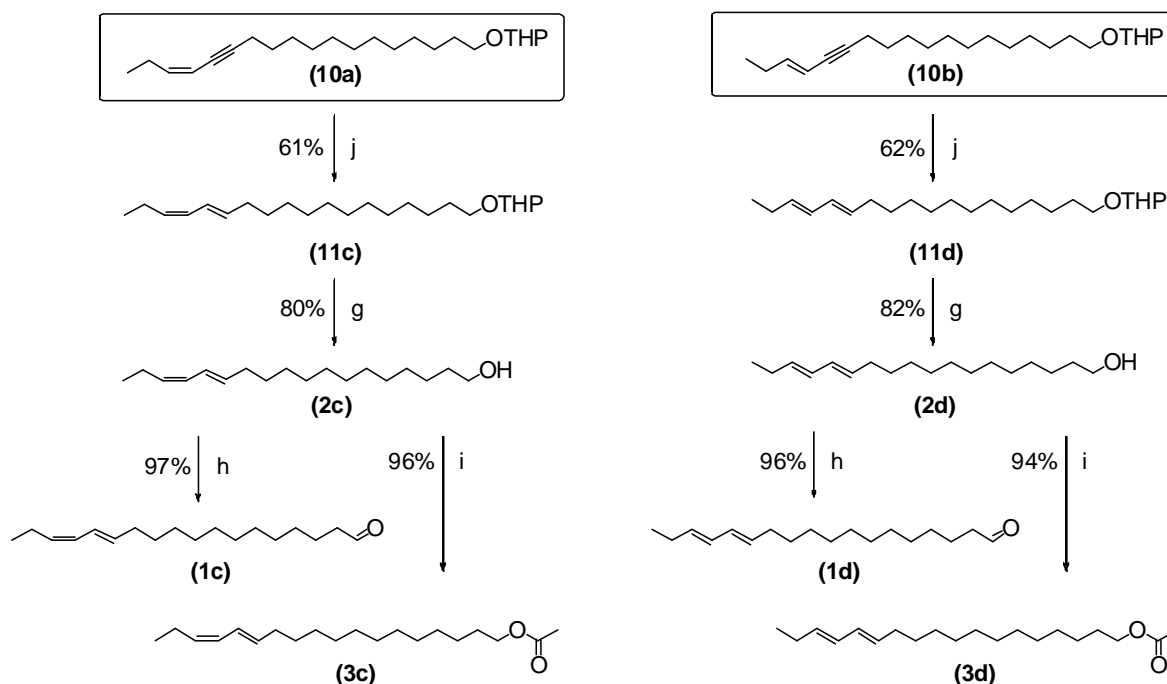
Figura 29. Estruturas químicas dos compostos **15** e **16**.

4.3. Estudos visando à síntese dos componentes bioativos de *Thelosia camina*

Após a proposta estrutural dos possíveis compostos que compõem o feromônio sexual de *Thelosia camina*, foram elaboradas rotas sintética visando à obtenção de todos esses compostos: componentes majoritários (**1a**, **2a** e **3a**) e todos os possíveis isômeros minoritários (**1b**, **2b** e **3b**; **1c**, **2c** e **3c** e **1d**, **2d**, e **3d**) (Esquemas 4 e 5) além dos compostos minoritários (*Z*)-13-octadecenal **(15)** e o (*Z*)-13-octadecen-1-ol acetato **(16)** (Esquema 6).



Esquema 4. Proposta sintética 1. Parte 1: a) HBr 48%, Tolueno, refluxo, 6 h; b) DHP, *p*-TSA, DCM, 8 h, t.a.; c) DMSO anidro, 4 h, 10°C; d) CuI, Pd(PPh₃)₄, Z-1-iodobuteno, piperidina, THF, 5 h, t.a.; e) CuI, Pd(PPh₃)₄, E-1-iodobuteno, piperidina, THF, 5 h, t.a.; f) (C₆H₁₁)₂BH, THF, AcOH, NaOH, H₂O₂, 4h, 0°C; g) *p*-TSA, MeOH, 5 h, t.a.; h) PCC, celite, NaOAc, DCM, 3 h, t.a.; i) Ac₂O, piridina, DCM, 12h, t.a..

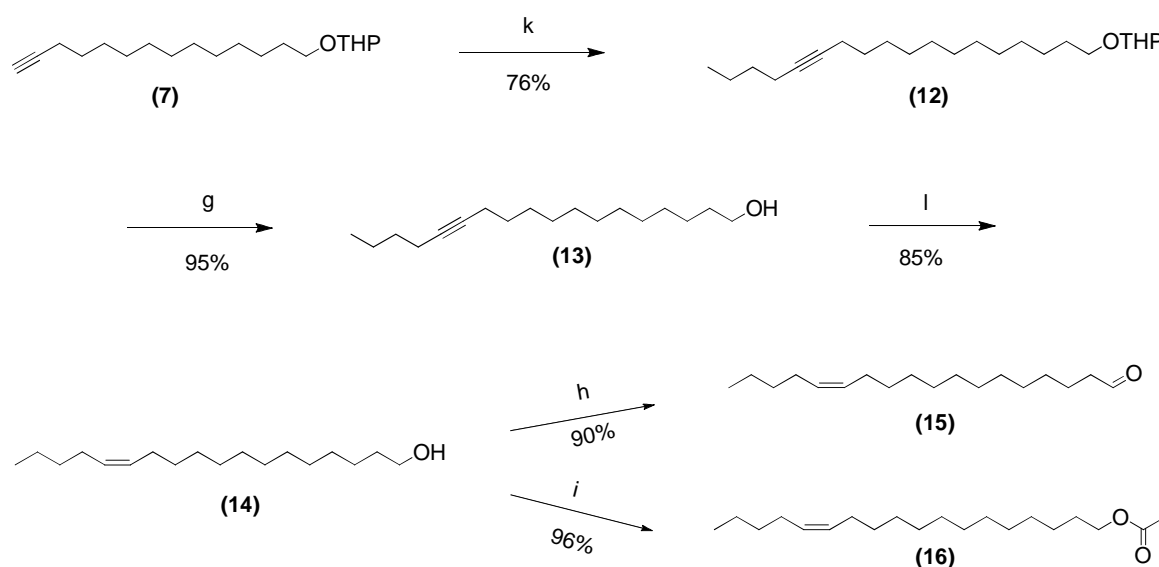


Esquema 5. Proposta sintética 1. Parte 2: j) LiAlH_4 , THF, refluxo, 5 h; g) *p*-TSA, MeOH, 5 h, t.a.; h) PCC., celite, NaOAc DCM, 3 h, t.a.; i) Ac_2O , piridina, DCM, 12 h, t.a.

Como etapa inicial, realizou-se uma monobromação do diol 1,12-dodecanodiol **(4)** para a formação do 12-bromododecan-1-ol **(5)** com rendimento de 89%. Utilizou-se o sistema *Dean-Stark* para remoção azeotrópica de água. A formação indesejada do composto dibromado foi controlada estequiometricamente pela adição de HBr 48%. A hidroxila do composto **5** é um grupamento funcional reativo, dessa forma, protegeu-se a mesma utilizando DHP, na presença de um catalisador ácido. A formação do éter derivado do tetraidropirano (THP), o 2-(12-bromododecaniloxi)-tetraidro-2H-pirano **(6)** se deu com 95% de rendimento. A reação de acetilação do composto **6** com o complexo de acetileno de lítio resultou na formação do intermediário **7** com 93% de rendimento. Esse intermediário **7** foi utilizado nas reações de acoplamento de Sonogashira com (*Z*)-1-iodo-1-buteno **(8)** e o (*E*)-1-iodo-1-buteno **(9)** resultando nos compostos **10a** e **10b** (rendimento de 87% e 93% respectivamente). Em seguida os compostos **10a** e **10b** foram submetidos as reações de hidrogenação da ligação tripla dividida em duas partes: uma

parte para a formação da ligação dupla com configuração *Z* com dicicloexilborano para a formação dos compostos **11a** com configuração *Z,Z* rendimento de 75% e **11b** com configuração *Z,E* rendimento de 83%, a outra parte foi utilizada para a formação da ligação dupla com configuração *E* com hidreto de lítio alumínio gerando os compostos **11c** com configuração *E,Z* e **11d** com configuração *E,E* (rendimento de 61% e 62% respectivamente). Após a formação dos quatro compostos **11a**, **11b**, **11c** e **11d**, esses foram submetidos a reação de desproteção do grupamento protetor com *p*-TSA e metanol resultando na formação dos compostos **2a**, **2b**, **2c** e **2d** (rendimentos de 75%, 83%, 80% e 82% respectivamente), Esses por sua vez foram divididos em duas partes: a primeira utilizada na reação de oxidação com PCC na formação dos aldeídos **1a**, **1b**, **1c** e **1d** com rendimentos de 98%, 98%, 97% e 96% respectivamente. E a segunda parte, na reação de acetilação com piridina e anidrido acético para a formação dos compostos **3a**, **3b**, **3c** e **3d** com rendimento de 95%, 93%, 96% e 94% respectivamente.

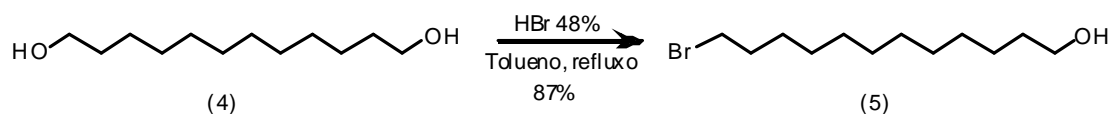
Para a síntese dos compostos minoritários (*Z*)-13-octadecenal e o (*Z*)-13-octadecen-1-ol acetato partiu-se o intermediário **7** obtido na rota anterior.



Esquema 6. Proposta sintética 2. *k*) *n*-BuLi, HMPA, THF, iodobutano, 8 h, 0°C; *g*) *p*-TSA, MeOH, 5 h, t.a.; *l*) Lindlar, quinolina, H₂, hexano, 10 atm, 2 h, t.a.; *h*) PCC, celite, NaOAc DCM, 3 h, t.a.; *i*) Ac₂O, piridina, DCM, 12 h, t.a.

O composto **7** foi submetido a uma reação de alquilação com o 1-iodobutano, empregando *n*-BuLi como base e HMPA com co-solvente, resultando na formação do composto **12** com 76% de rendimento. Em seguida o composto **12** foi desprotegido com *p*-TSA e metanol gerando o composto **13** com 95% de rendimento. O intermediário **6** foi reduzido estereoseletivamente com o reagente de Lindlar para formar o composto **14** em 85% de rendimento. O álcool **14** foi utilizado tanto reação de oxidação para a formação do aldeído **15** com PCC (rendimento de 90%) como na reação de acetilação com piridina e anidrido acético na formação do éster **16** com 96% de rendimento.

4.3.1. Preparação do composto 5



Esquema 7. Preparação do composto 5.

Para a síntese do 12-bromododecan-1-ol (**5**) realizou-se a monobromação do 1,12-dodecanodiol (**4**), utilizando-se solução aquosa de HBr (48%) em tolueno, sob refluxo (Esquema 7). A formação indesejada do produto di-bromado foi controlada estequiometricamente, de acordo com o procedimento descrito por Chong *et al.*^[37]. Observa-se no espectro de massas a presença dos picos em *m/z* 148/150 e 162/164Da devido à contribuição isotópica do átomo de bromo presente na estrutura (Figura 30).

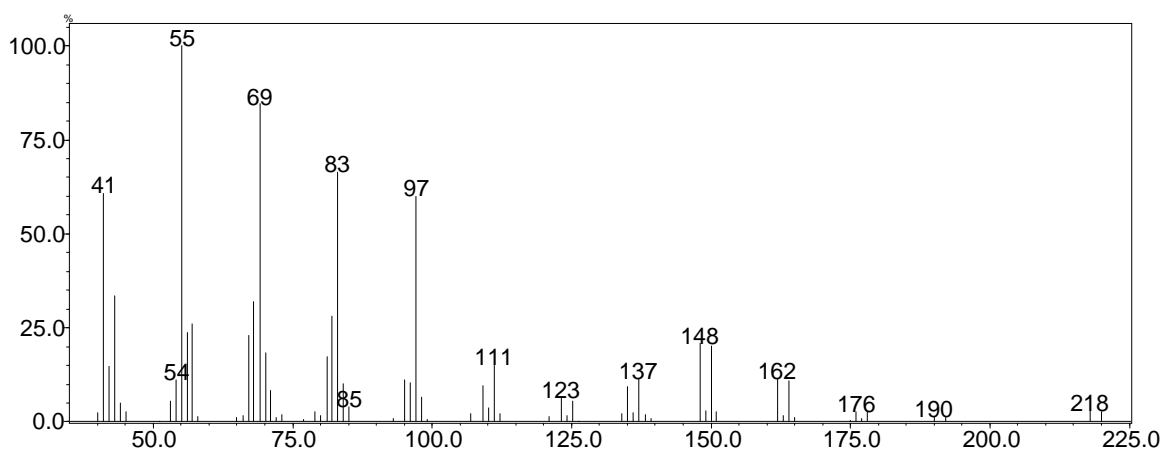


Figura 30. Espectro de massas do composto **5**.

O composto monobromado foi caracterizado a partir do espectro de RMN de ^1H (Figura 31), onde se observa a presença de dois tripletos em 3,39 e 3,62 ppm integrando para dois hidrogênios cada, referentes aos hidrogênios ligados aos carbonos vizinhos ao átomo de bromo e à hidroxila, respectivamente. No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 32) destaca-se a presença do sinal de carbono carbinólico em 63 ppm.

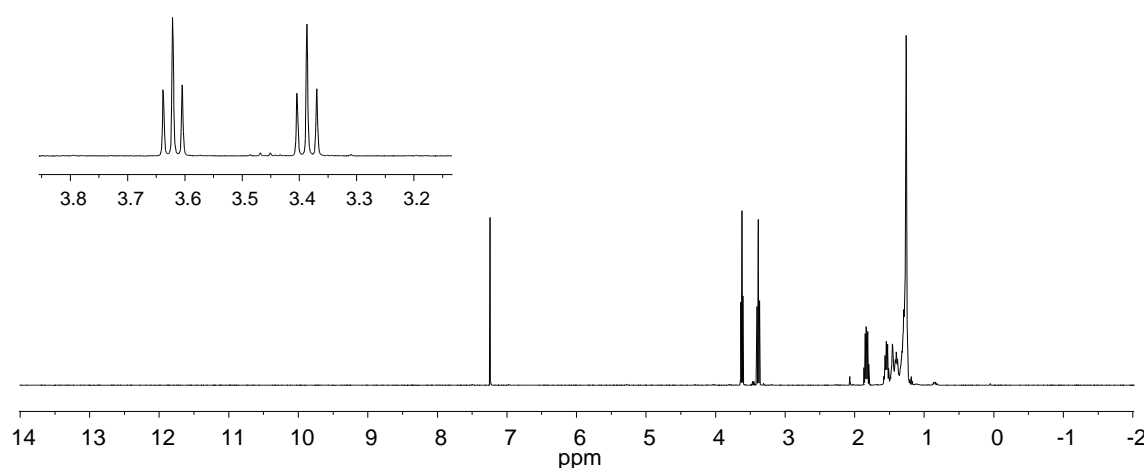


Figura 31. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **5**.

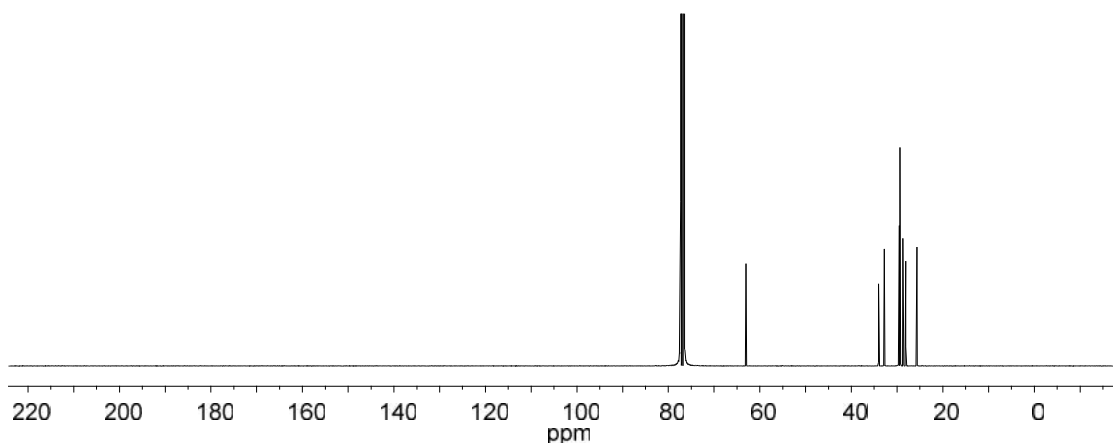
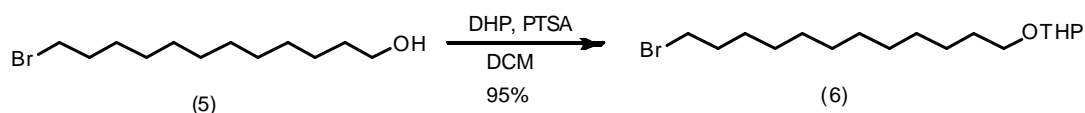


Figura 32. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **5**.

4.3.2. Preparação do composto **6**



Esquema 8. Preparação do composto **6**.

O grupamento hidroxila presente no composto **5**, foi protegido através da reação com diidropirano, levando à formação de um acetal derivado do tetraidropirano, o 2-(12-bromododecaniloxi)-tetrahydro-2H-pirano (**6**) (Esquema 8). Seu espectro de massas apresenta pico base em m/z 85Da referente ao fragmento do grupo protetor da hidroxila e pico do íon molecular em m/z 347/349Da devido à contribuição isotópica do átomo de bromo (Figura 333).

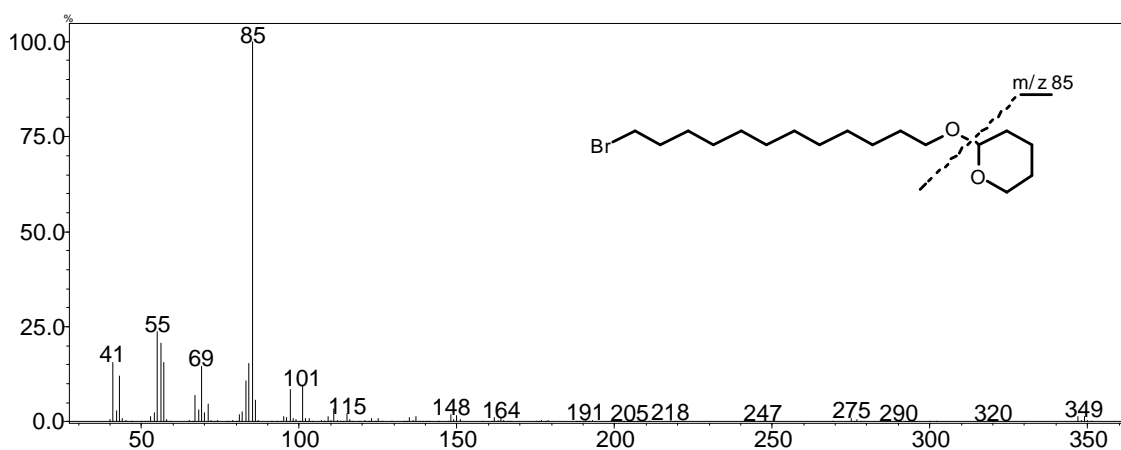


Figura 33. Espectro de massas do composto **6**.

Por meio da análise do espectro de RMN de ^1H (Figura 344) foi possível confirmar a estrutura do composto **6** através do aparecimento de um sinal multiplete, integrando para um hidrogênio entre 4,55-4,62 ppm, referente ao hidrogênio cetálico do grupamento THP. O carbono cetálico apresenta sinal em 98,8 ppm no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 35).

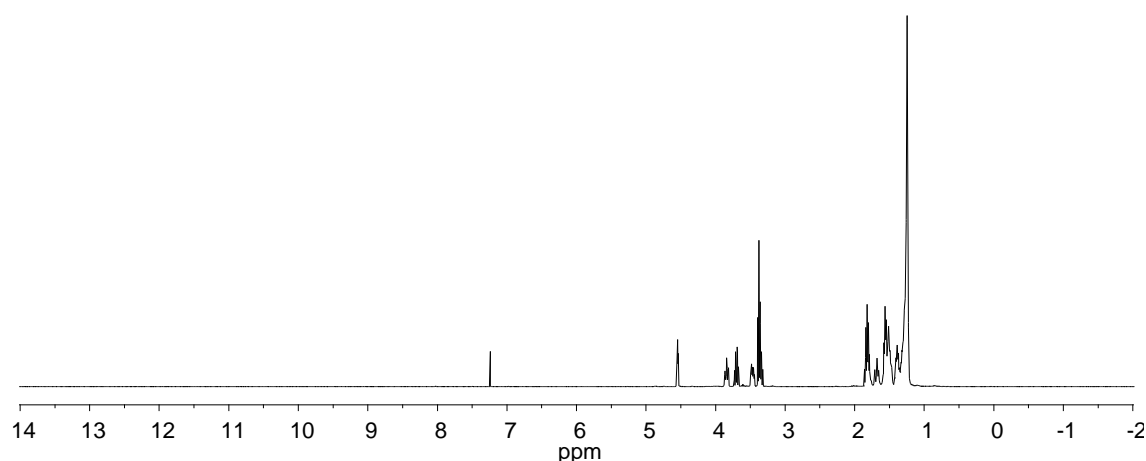


Figura 34. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **6**.

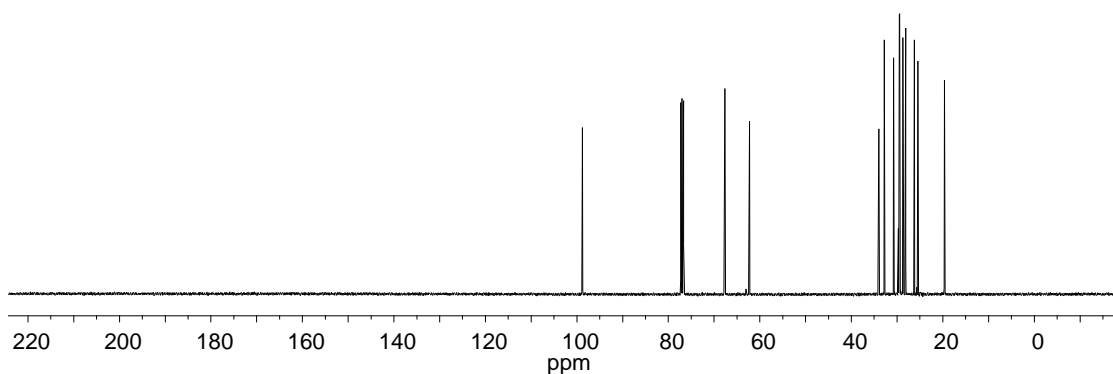
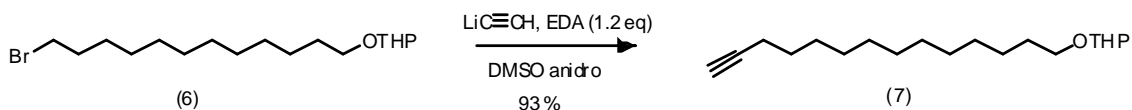


Figura 35. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **6**.

4.3.3. Preparação do composto **7**



Esquema 9. Preparação do composto **7**.

A reação de acetilação do composto **6** foi realizada na presença do complexo de acetileno de lítio e etilenodiamina em DMSO anidro sob agitação magnética por 4 horas (Esquema 9). O espectro de massas para o composto **7** apresenta pico do íon molecular em m/z 293Da e pico base em m/z 85Da demonstrando a permanência do grupo protetor da hidroxila (Figura 36).

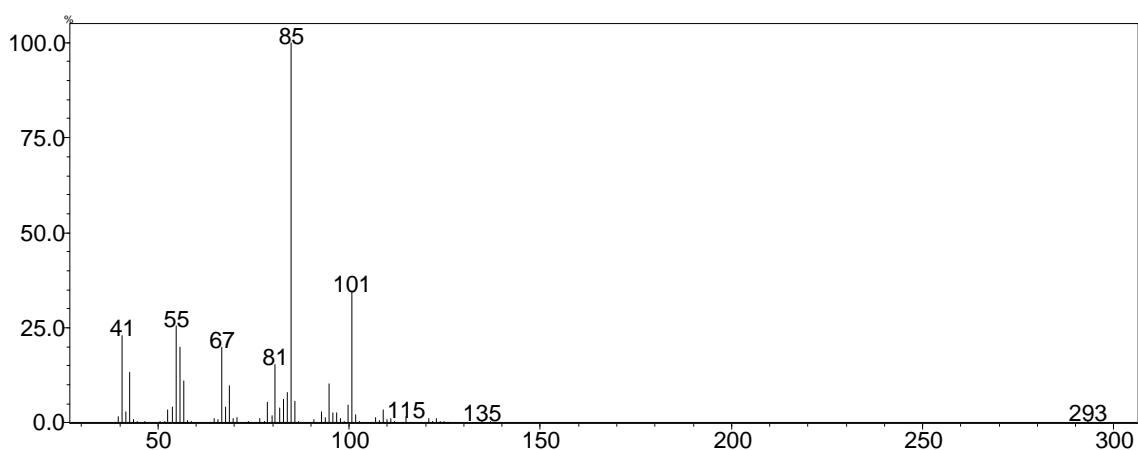


Figura 36. Espectro de massas do composto **7**.

A acetilenação do composto **6** foi comprovada pelo espectro de RMN de ^1H onde observa-se um tripleto em 1,93 ppm, integrando para um hidrogênio, referente ao hidrogênio ligado ao carbono da ligação tripla, acoplando a longa distância com os hidrogênios ligados ao CH_2 vizinho à tripla com constante J de 2,6 Hz. O sinal destes hidrogênios aparece em 2,15 ppm na forma de um triploduplete, com constantes $J_1 = 6,8$ Hz e $J_2 = 2,6$ Hz (Figura 37). O espectro de RMN de ^{13}C destaca-se o em 68 ppm referente ao CH da ligação tripla, assim como o sinal em 84 ppm de carbono quaternário (Figura 38).

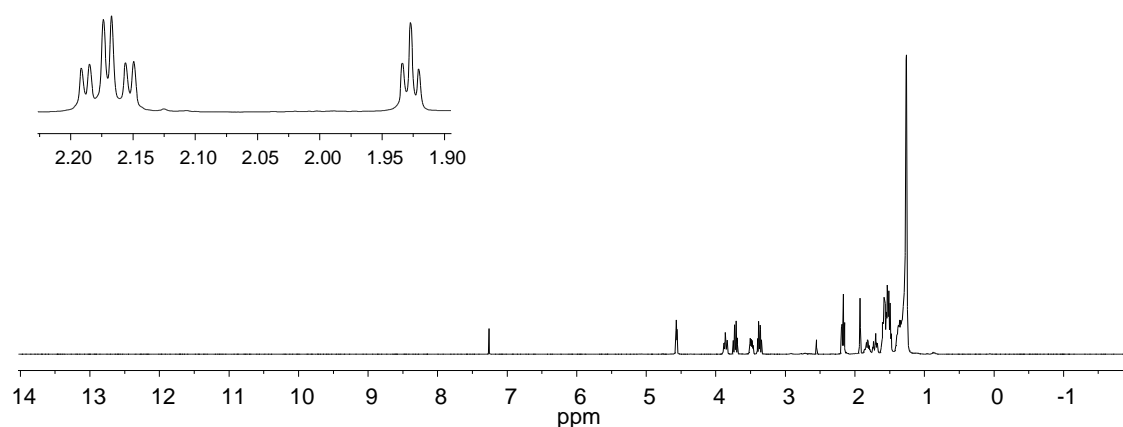


Figura 37. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **7**.

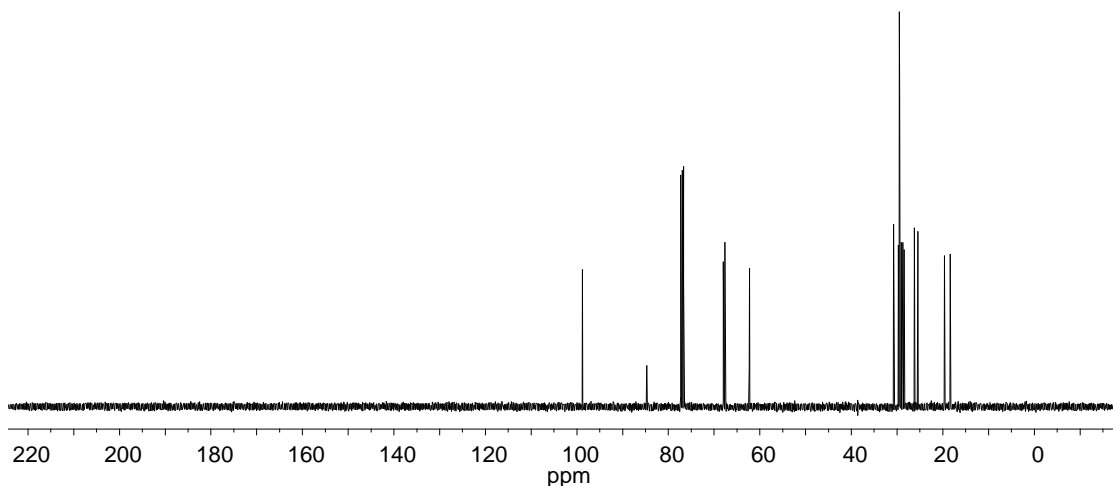
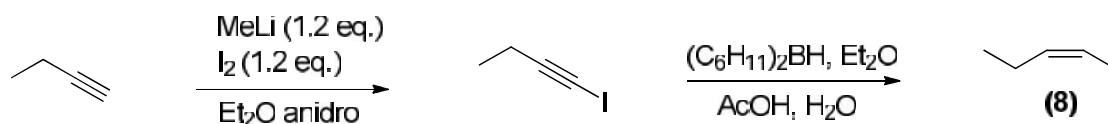


Figura 38. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **7**.

4.3.4. Preparação do composto **8**



Esquema 10. Preparação do composto **8**.

O composto **8** foi sintetizado em duas etapas através da halogenação com iodo do 1-butino e redução da ligação tripla para ligação dupla com configuração *Z*, utilizando dicicloexilborano sob agitação magnética. No espectro de RMN de ^1H do intermediário 1-iodo-1-butino (Figura 39) formado podemos destacar o desaparecimento do sinal do hidrogênio do carbono *sp* localizado na região de 1,90 ppm do 1-butino, utilizado como material de partida, e o deslocamento químico do carbono diretamente ligado ao átomo de iodo em 96 ppm no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 40).

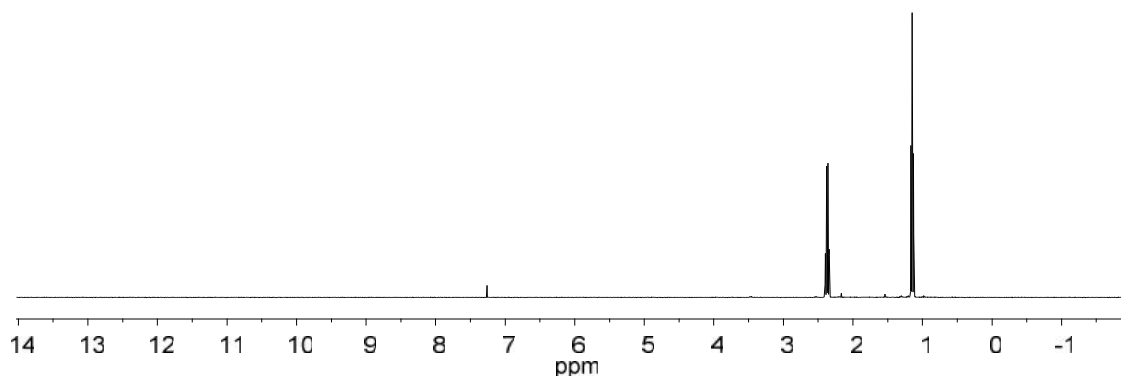


Figura 39. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do 1-iodo-1-butino.

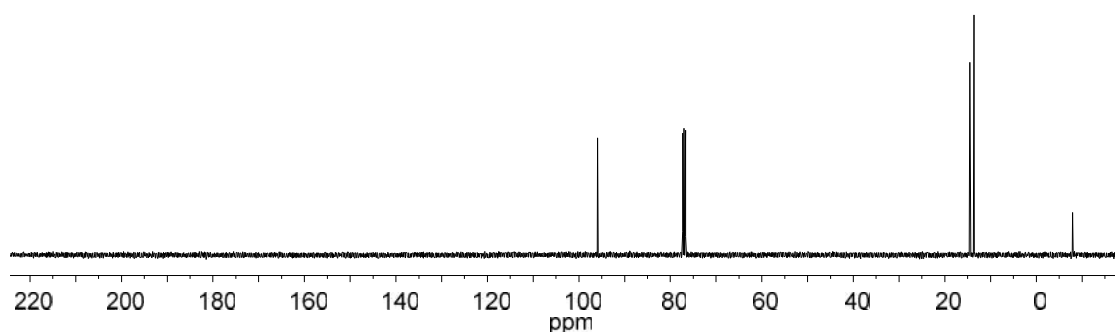


Figura 40. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do 1-iodo-1-butino.

Na segunda etapa, através dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C do composto (*Z*)-1-iodo-1-buteno formado foi possível observar a redução do intermediário 1-iodo-1-butino pelo surgimento do sinal dos hidrogênios de configuração *Z* com constante de acoplamento $J = 10.9$ Hz na região de 6,13 ppm (Figura 41) e do deslocamento dos carbonos agora sp^2 nas regiões de 142 e 81 ppm (Figura 42).

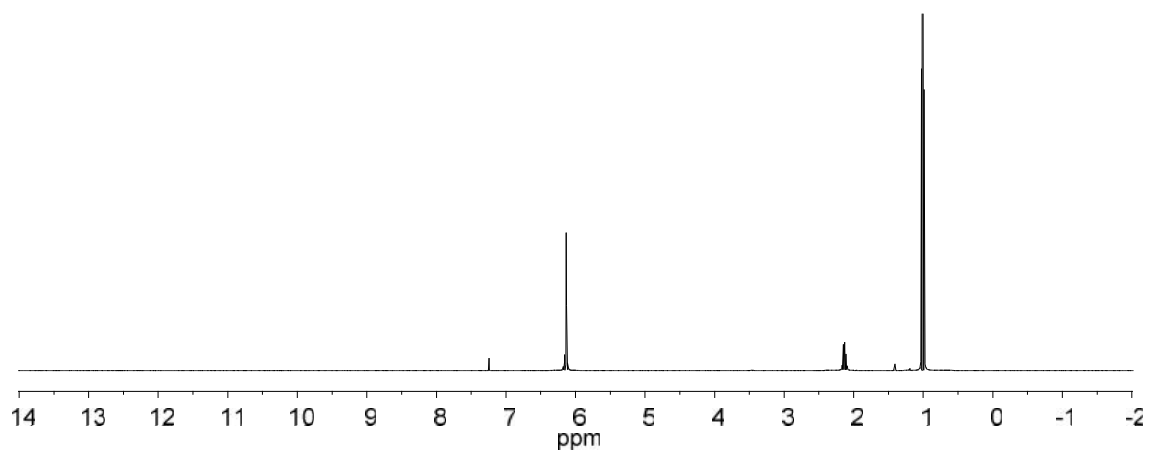


Figura 41. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **8**.

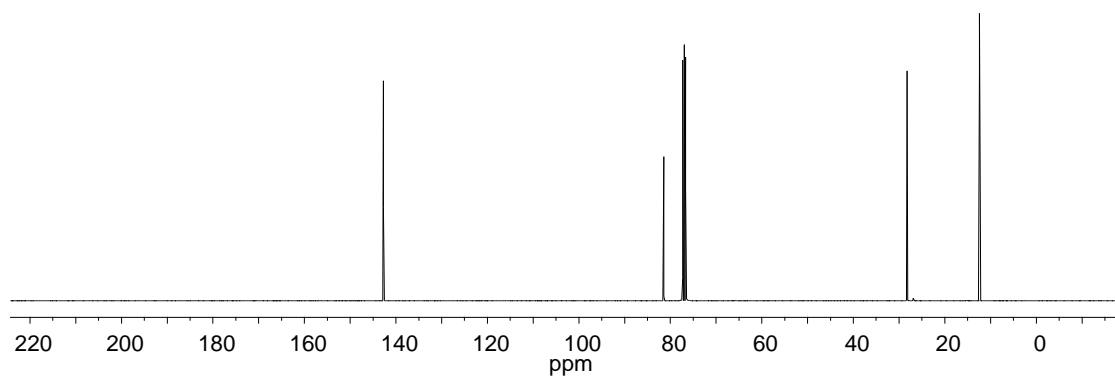
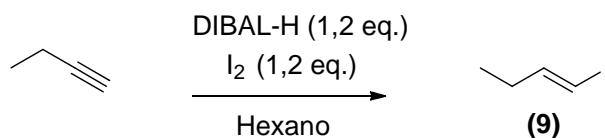


Figura 42. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **8**.

4.3.5. Preparação do composto 9



Esquema 11. Preparação do composto 9.

A síntese do (*E*)-1-iodo-1-buteno foi conduzida a partir da redução do 1-butino com hidreto de diisobutilalumínio em hexano sob agitação magnética. No espectro de RMN de ¹H do (*E*)-1-iodo-1-buteno é possível observar a redução do 1-iodo-1-butino através do aparecimento dos sinais dos hidrogênios integrando para um hidrogênio com constante de acoplamento de $J = 15,1$ Hz cada na região de 5,92 e 6,49 ppm (Figura 43), confirmando a configuração *E* da ligação dupla do composto.

No espectro de RMN de ¹³C foi observado deslocamento químico dos carbonos *sp*² nas regiões de 73 e 148 ppm (Figura 44).

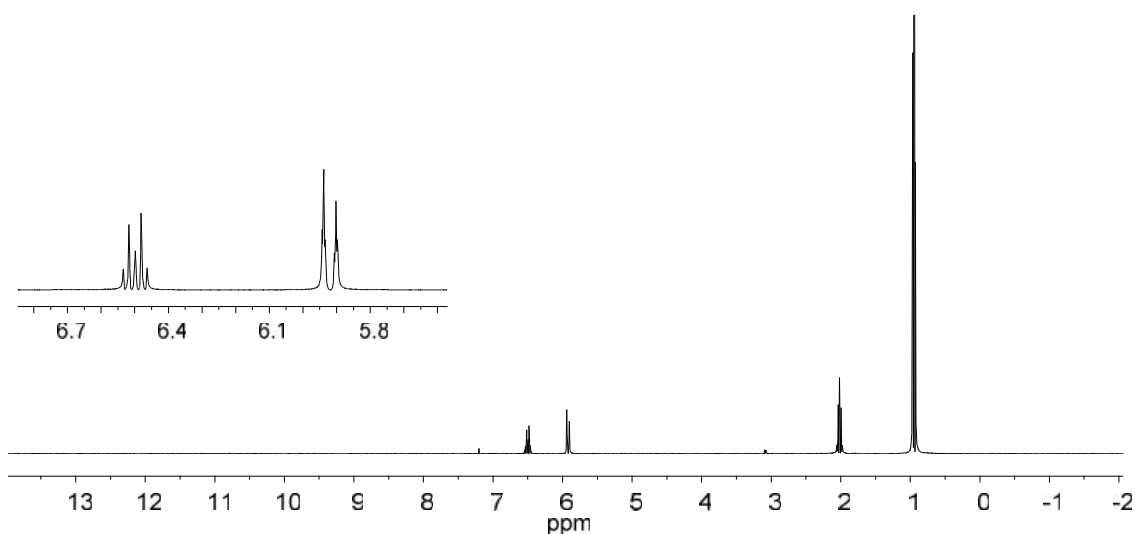


Figura 43. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **9**.

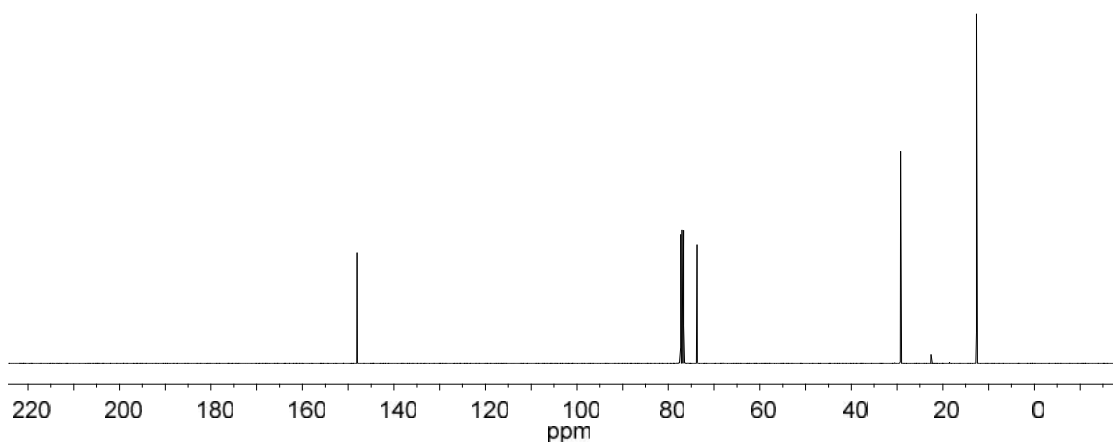
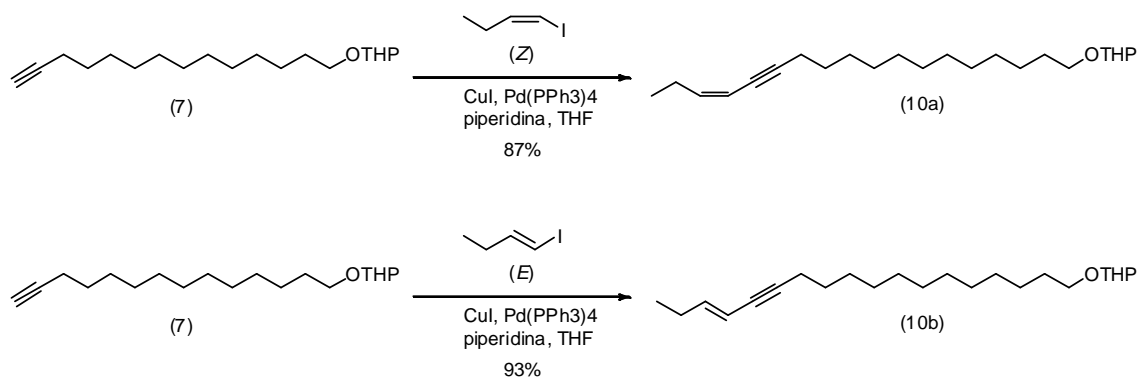


Figura 44. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **9**.

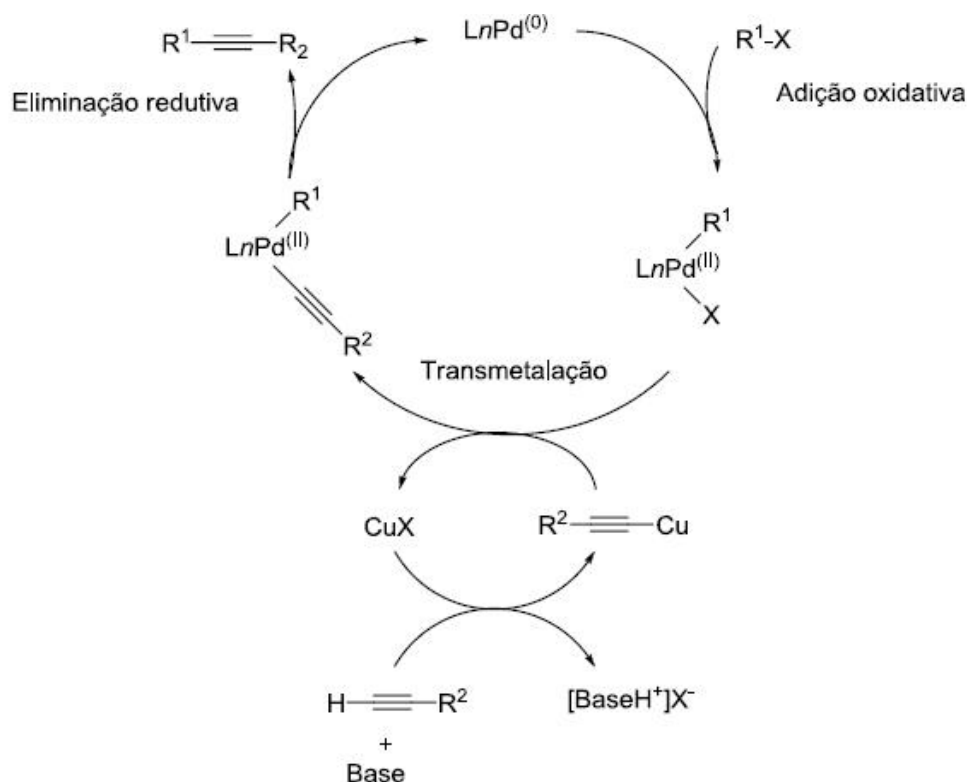
4.3.6. Preparação do composto 10a e 10b



Esquema 12. Preparação do composto **10a** e **10b**.

Os compostos **10a** e **10b** foram obtidos através da reação de acoplamento entre o composto **7**, um alcino terminal, e os haletos vinílicos (*Z*)-1-iodo-1-buteno (**8**) e (*E*)-1-iodo-1-buteno (**9**), catalisados por paládio e co-

catalisados por iodeto de cobre na presença de piperidina utilizada com base. Esse tipo de acoplamento entre um carbono sp e um carbono sp^2 catalisada paládio e co-catalisada por sais de cobre na presença de base (aminas) é conhecido como reação de acoplamento cruzado de Sonogashira. O mecanismo para essas reações de acoplamento pode ser generalizado através de três etapas consecutivas no ciclo catalítico: a adição oxidativa do paládio ao haleto vinílico, seguida da transmetalção com o organometálico e por fim, a eliminação redutiva levando a formação da molécula orgânica desejada e à regeneração da espécie catalítica. No ciclo catalítico, inicialmente, o complexo de $Pd^{(0)}$ sofrer uma adição oxidativa na presença do haleto orgânico, resultando no complexo intermediário de $Pd^{(II)}$. Este complexo por dissociação perde o íon haleto e se coordena com o acetileno de cobre, gerado do meio reacional através da reação do acetileno terminal com sal de cobre (CuX) na presença de uma amina, gerando um novo intermediário de $Pd^{(II)}$. Este intermediário gera o acetileno de interesse através da reação de eliminação redutiva, regenerando o complexo de $Pd^{(0)}$ [55]. (Esquema 13).



Esquema 13. Ciclo catalítico da reação de acoplamento de Sonogashira.

Os compostos **10a** e **10b** gerados pelo acoplamento de Sonogashira foram caracterizados por CG-EM onde seus respectivos espectros de massas apresentaram fragmentos do íon molecular 348Da referente a massa do composto sintetizado e pico base em m/z 85Da referente ao grupo protetor da hidroxila (Figura 45 e 46).

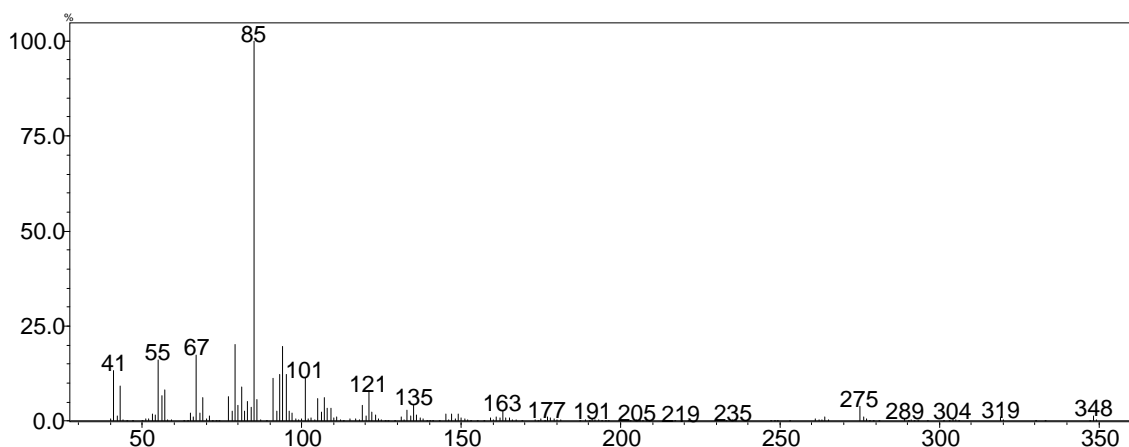


Figura 45. Espectro de massas do composto **10a**.

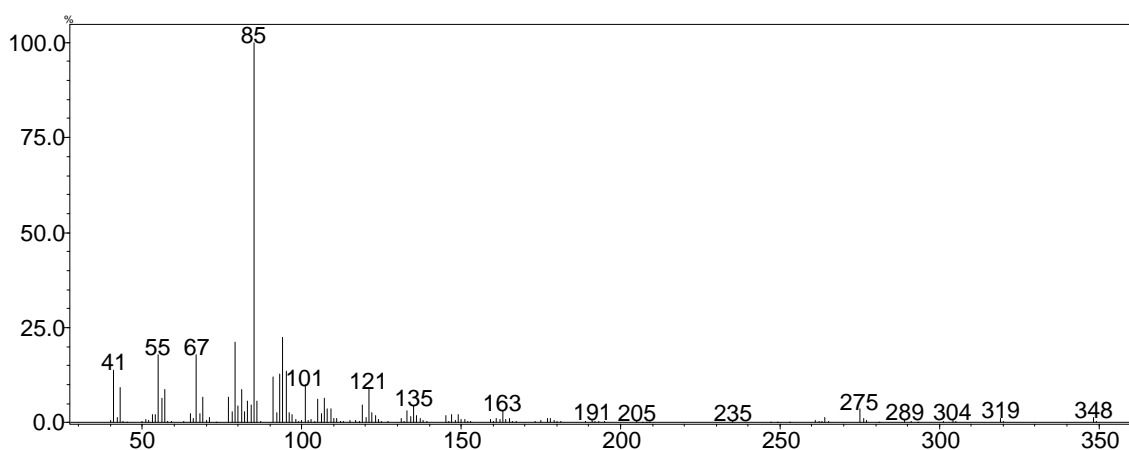


Figura 46. Espectro de massas do composto **10b**.

A diferença de isomeria dos compostos **10a** e **10b** foi comprovada por RMN de ^1H , onde para o composto **10a** o espectro de RMN de ^1H apresentou dois sinais importantes com constantes de acoplamentos típicas para a determinação da sua isomeria, um deles em 5,4 ppm integrando para um hidrogênio com constantes $J_1 = 10,7$ Hz e outro em 5,8 ppm também integrando para um hidrogênio com constantes $J_1 = 10,7$ Hz e $J_2 = 7,3$ Hz confirmando a configuração *Z* da ligação dupla (Figura 47). Já no espectro de RMN de ^{13}C destacam-se os sinais em 108 e 144 ppm referentes aos carbonos com hibridização sp^2 (Figura 48).

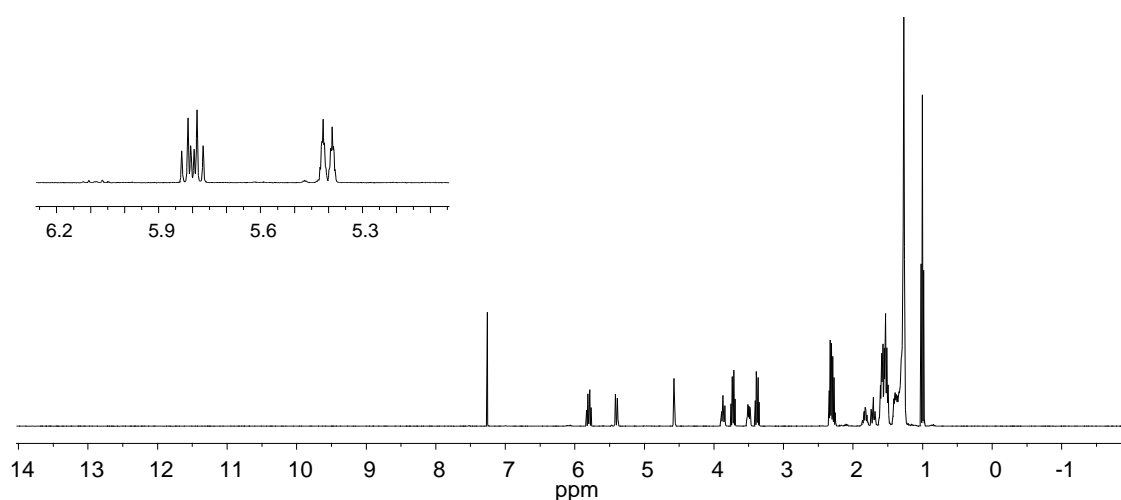


Figura 47. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **10a**.

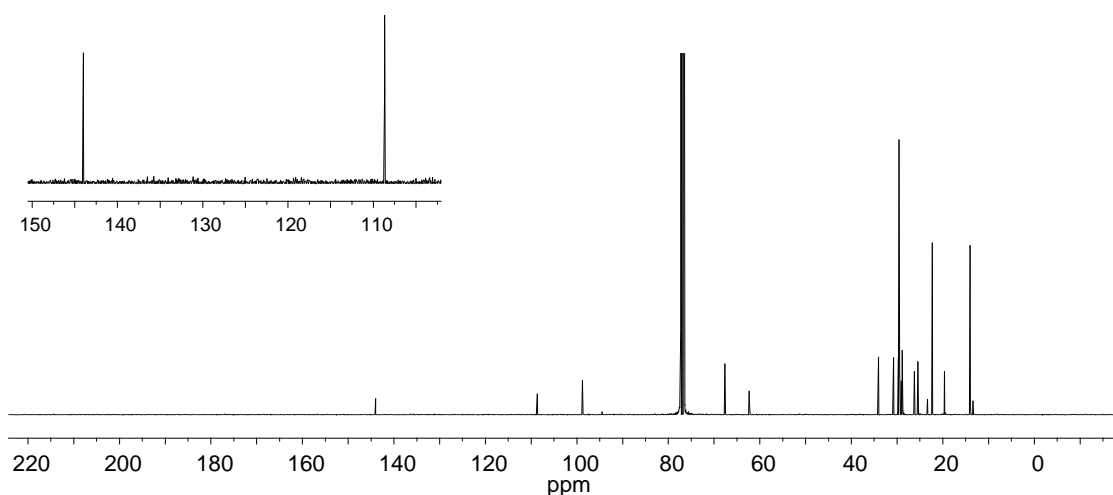


Figura 48. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **10a**.

Para o composto **10b**, o espectro de RMN de ^1H também apresentou dois sinais importantes integrando para um hidrogênio cada em 5,45 ppm com constantes $J_1 = 15,8$ Hz e outro em 6,1 com constantes $J_1 = 15,8$ Hz e $J_2 = 6,6$ Hz confirmando a configuração *E* da ligação dupla. (Figura 49). No espectro de RMN de ^{13}C destacam-se os sinais em 109 e 144 ppm referentes aos carbonos sp^2 (Figura 50).

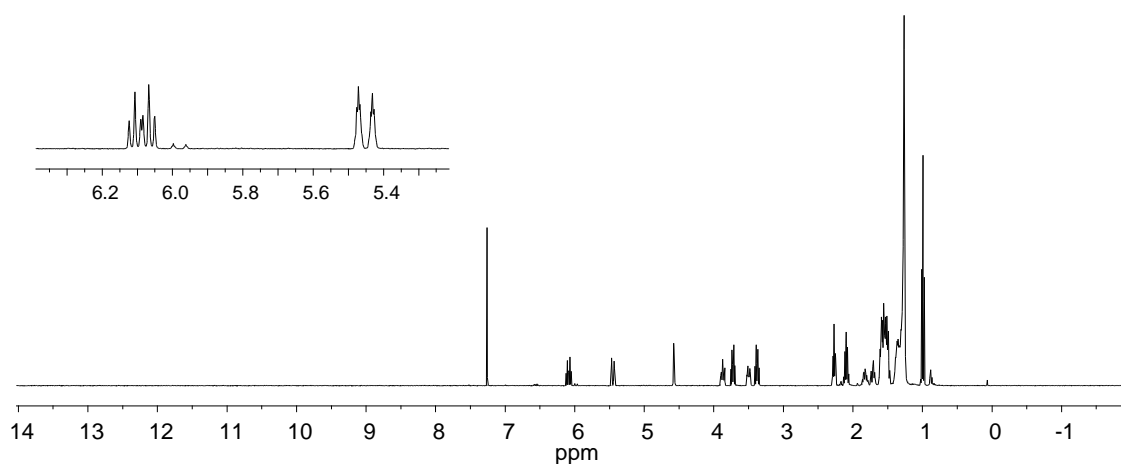


Figura 49. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **10b**.

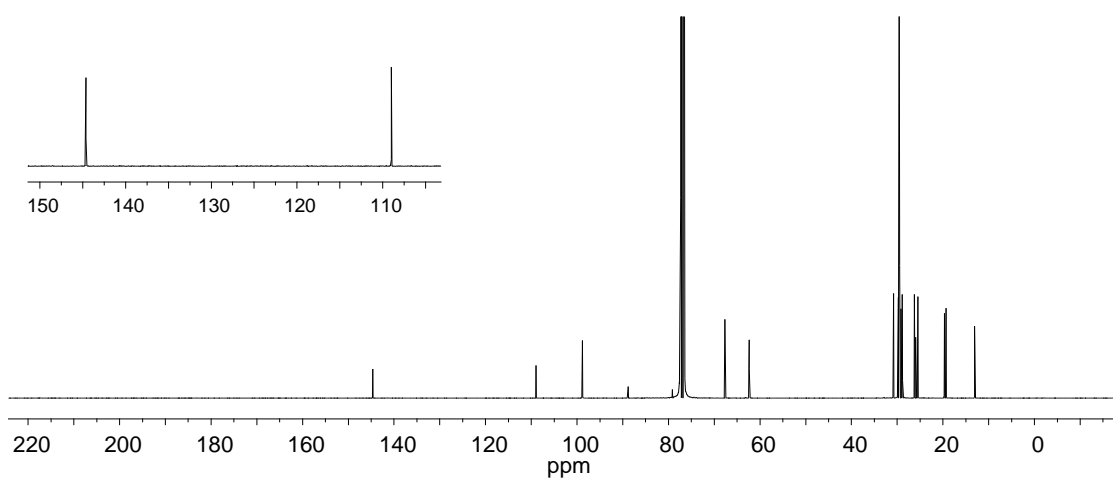
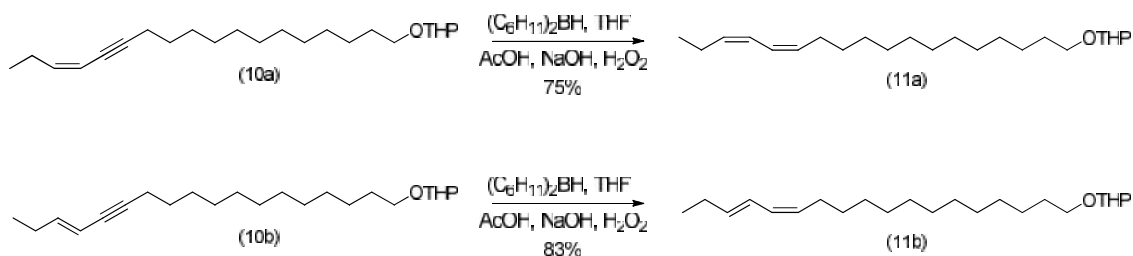


Figura 50. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **10b**.

4.3.7. Preparação do composto 11a e 11b



Esquema 14. Preparação do composto **11a** e **11b**.

A redução da ligação tripla do composto **10a** e **10b** para ligação dupla com configuração Z, foi realizada com dicicloexilborano sob agitação magnética (Esquema 14). O espectro de massas para dos compostos **11a** e **11b** apresentam pico do íon molecular em m/z 350Da, aumento de 2 unidades de massa (quando comparados como os compostos **10a** e **10b**) referente aos dois hidrogênios inseridos na molécula, e o pico base em m/z 85Da demonstrando a permanência do grupo THP (Figura 51 e 52).

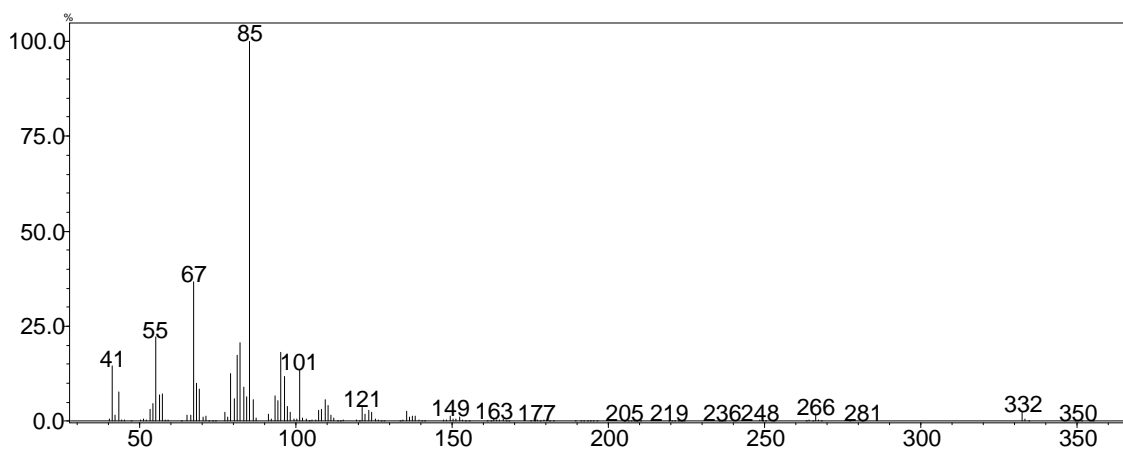


Figura 51. Espectro de massas do composto **11a**.

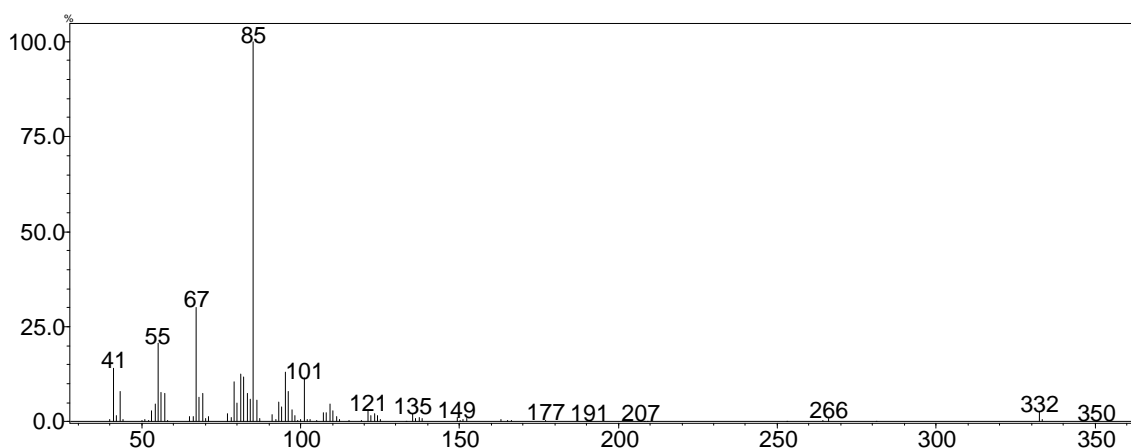


Figura 52. Espectro de massas do composto **11b**.

A configuração foi caracterizada pelo espectro de RMN de ^1H dos compostos sintetizados, onde para o compostos **11a**, observa-se dois sinais duplo tripletos, um em 5,42 ppm integrando para um hidrogênio com constantes $J_1 = 10,2$ Hz e $J_2 = 7,3$ Hz e outro em 5,45 ppm também integrando para um hidrogênio com constantes $J_1 = 10,3$ Hz e $J_2 = 7,2$ Hz. Além de um sinal multipletto em 6,22 ppm integrando para dois hidrogênios confirmando a configuração *Z,Z* do sistema conjugado (Figura 53). No espectro de RMN de ^{13}C destacam-se os sinais em 123, 123,5, 132 e 133,5 ppm referentes aos quatro carbonos sp^2 presentes na molécula (Figura 54).

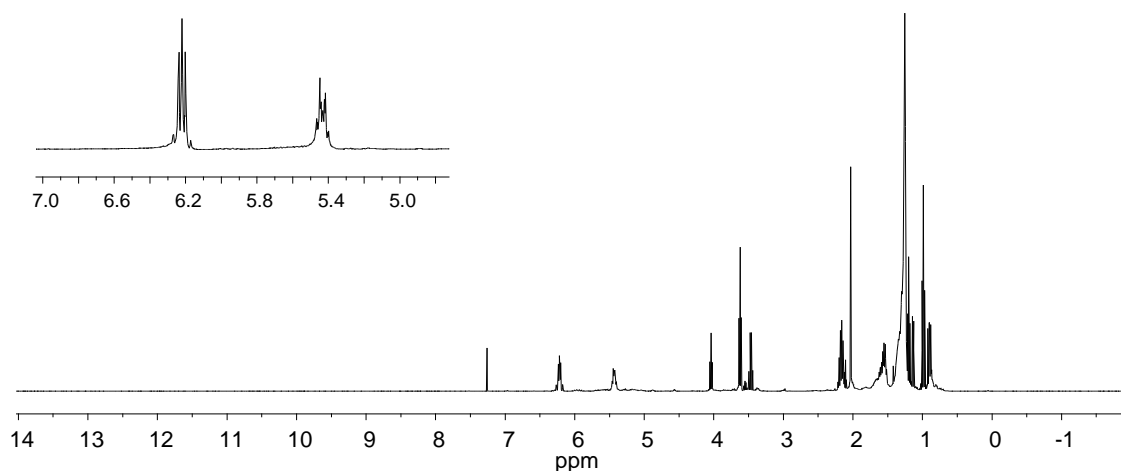


Figura 53. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **11a**.

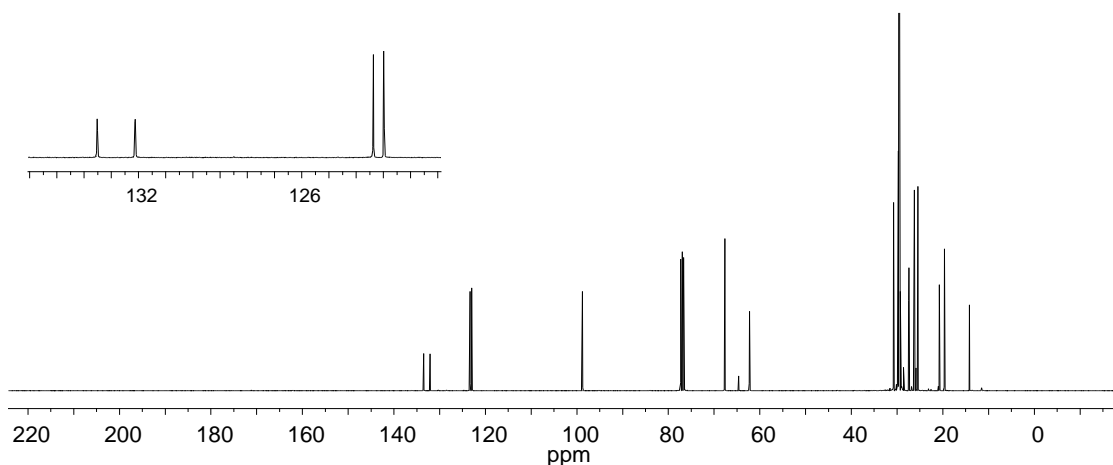


Figura 54. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **11a**.

Para o composto **11b**, o espectro de RMN de ^1H apresenta quatro sinais integrando para um hidrogênio cada, um em 5,27 ppm com constantes $J_1 = 10,8$ Hz e $J_2 = 7,2$ Hz, em 5,65 ppm com constantes $J_1 = 14,8$ Hz e $J_2 = 6,8$ Hz, em 5,95 ppm com constante $J_1 = 10,8$ Hz e em 6,28 ppm com constantes $J_1 = 15,2$ Hz, $J_2 = 10,8$ Hz e $J_3 = 1,2$ Hz confirmando a configuração *Z,E* do composto **11b** (Figura 55). No espectro de RMN de ^{13}C destacam-se os sinais em 124, 128, 130 e 136 ppm referentes aos quatro carbonos sp^2 (Figura 56).

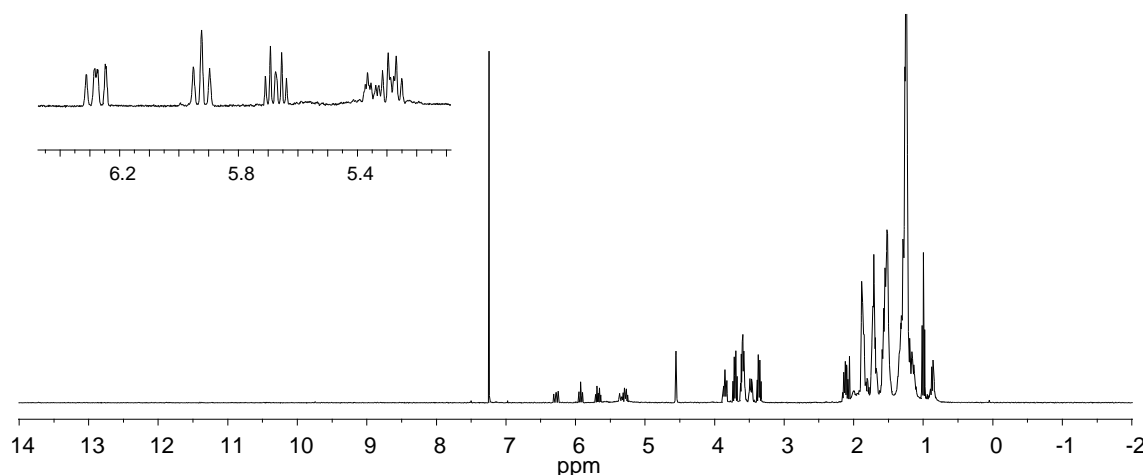


Figura 55. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **11a**.

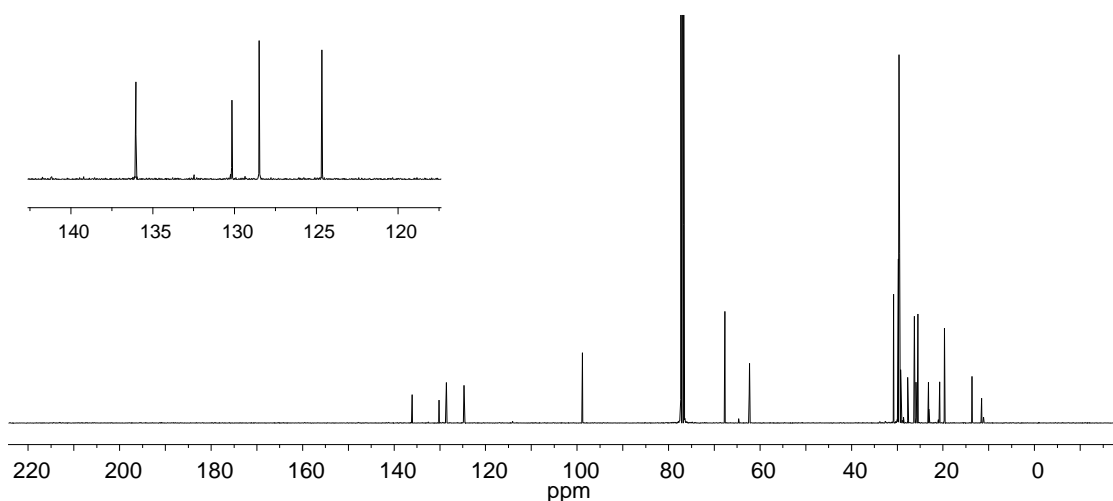
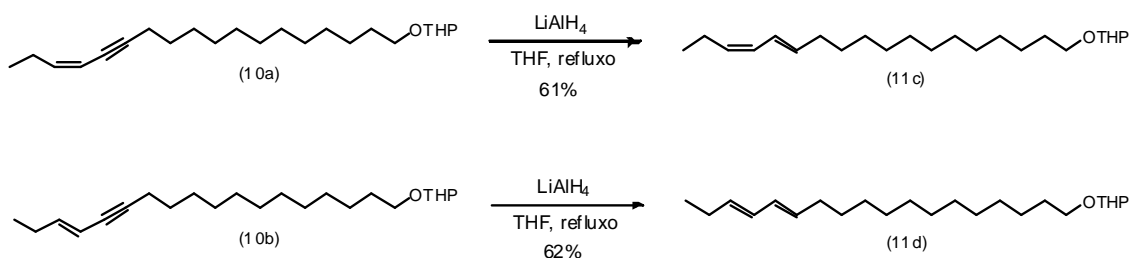


Figura 56. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **11b**.

4.3.8. Preparação do composto **11c** e **11d**



Esquema 15. Preparação do composto **11c** e **11d**.

A redução da ligação tripla do composto **10a** e **10b** para ligação dupla com configuração *E*, foi realizada com hidreto de lítio alumínio em suspensão em THF sob agitação magnética (Esquema 15). Os produtos foram obtidos isomericamente impuros, em proporção de 3:1 (*E,Z,Z,Z*) para o composto **11c** e o mesmo acontecendo para o composto **11d** 3:1 (*E,E,Z,E*). Os compostos

11c e **11d** foram sintetizados para fins comparativos, sem a necessidade do isolamento dos seus isômeros.

Os espectros de massas para os compostos **11c** e **11d** apresentam picos dos íons moleculares em m/z 350Da, aumento de 2 unidades de massa referente aos dois hidrogênios inseridos na molécula quando comparados com os compostos **10a** e **10b** respectivamente, e o pico base em m/z 85Da demonstrando a permanência do grupo protetor da hidroxila (Figura 57 e 58).

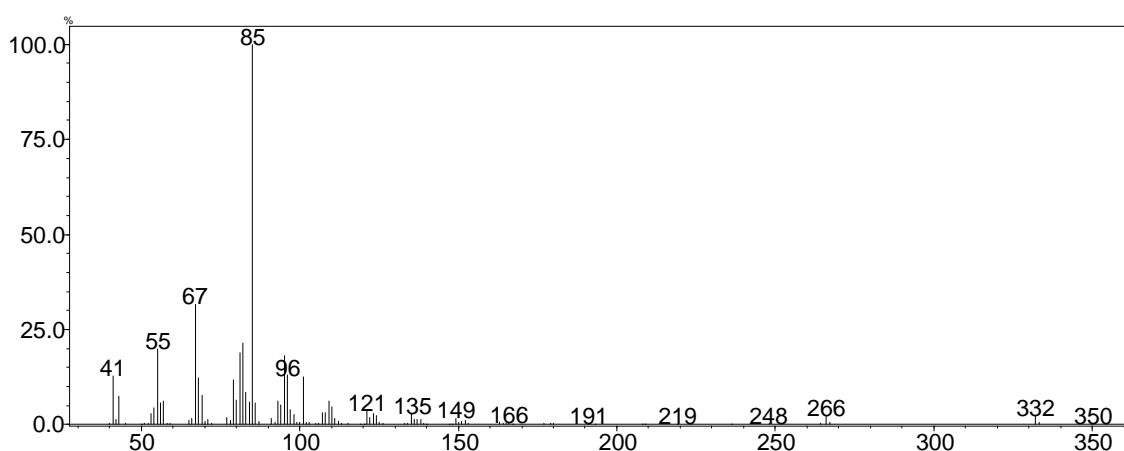


Figura 57. Espectro de massas do composto **11c**.

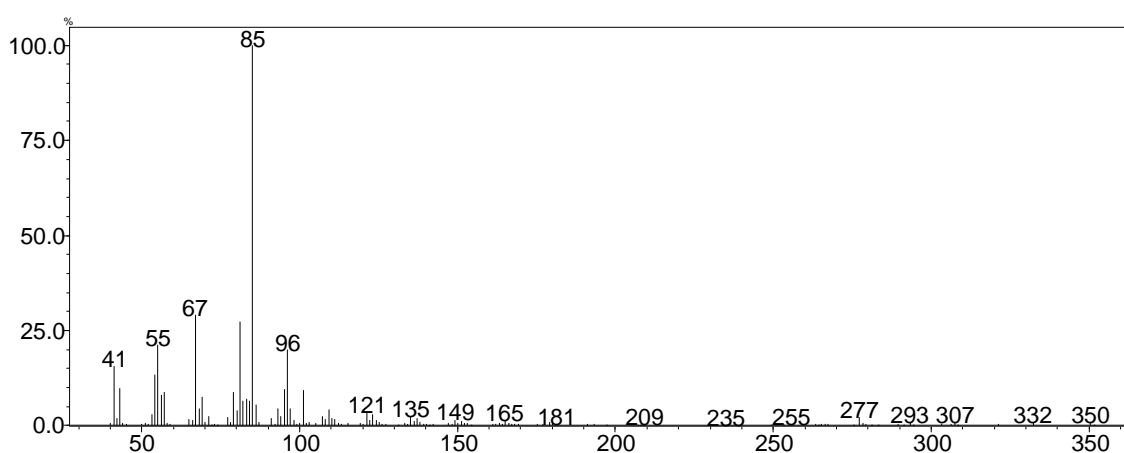
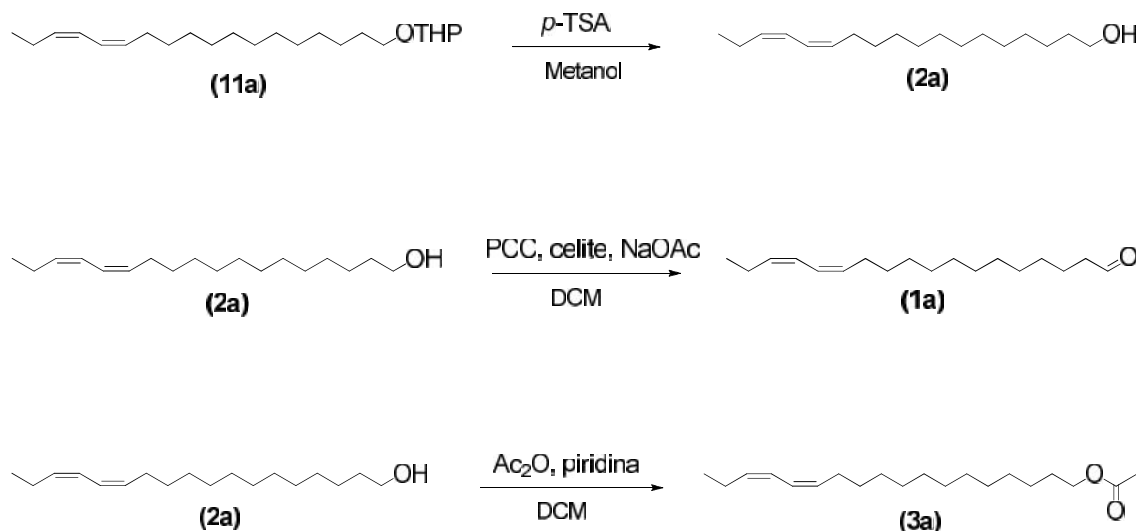


Figura 58. Espectro de massas do composto **11d**.

4.3.9. Preparação dos compostos 1a, 2a e 3a e seus estereoisômeros



Esquema 16. Preparação do composto **1a**, **2a** e **3a**.

Os quatro estereoisômeros obtidos (**11a**, **11b**, **11c** e **11d**) foram submetidos a uma sequência de reações para obtenção dos grupos de compostos propostos anteriormente como sendo: aldeídos (grupo 1), álcoois (grupo 2) e ésteres (grupo 3). Os aldeídos relacionados aos compostos do grupo 1 foram obtidos através de oxidação com PCC em diclorometano dos seus respectivos álcoois (grupo 2), que por sua vez foram obtidos através da desproteção da hidroxila em meio ácido e metanol. Os ésteres relacionados aos compostos do grupo 3 foram sintetizados através da reação de acetilação com piridina e anidrido acético a partir dos seus álcoois correspondentes. Todos os compostos foram co-injetados e tiveram seus Índices de Kovats e seus respectivos espectros de massas comparados com o extrato natural. Os espectros de massas referentes aos componentes majoritários de cada grupo o **1a**, **2a** e **3a**, apresentam picos dos íons moleculares (M^+) com valores de m/z 264, 266 e 308Da respectivamente, além do aumento sequencial de 14

unidades de massa (CH_2), acompanhada da diminuição da intensidade dos fragmentos do espectro da esquerda para a direita, típico de cadeias carbônicas lineares. A presença do fragmento m/z 235Da ($M - 29$) para o componente **1a** referente à perda de $\text{CHO}\cdot$ devido ao grupamento aldeído presente na cadeia (Figura 59). No espectro de massas referente ao componente **2a**, observa-se o fragmento m/z 248Da ($M - 18$) referente à perda de H_2O característico da função álcool (Figura 60), e para o componente **3a**, o espectro de massas observa-se o fragmento m/z 248Da ($M - 60$) referente à perda de ácido acético e a presença um fragmento intenso m/z 43Da característico da função éster (Figura 61).

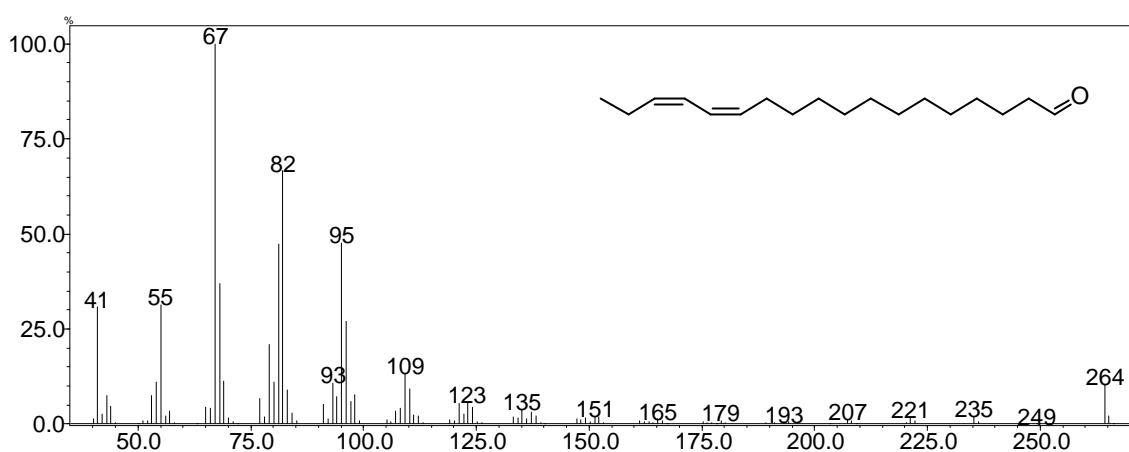


Figura 59. Espectro de massas do composto majoritário **1a**.

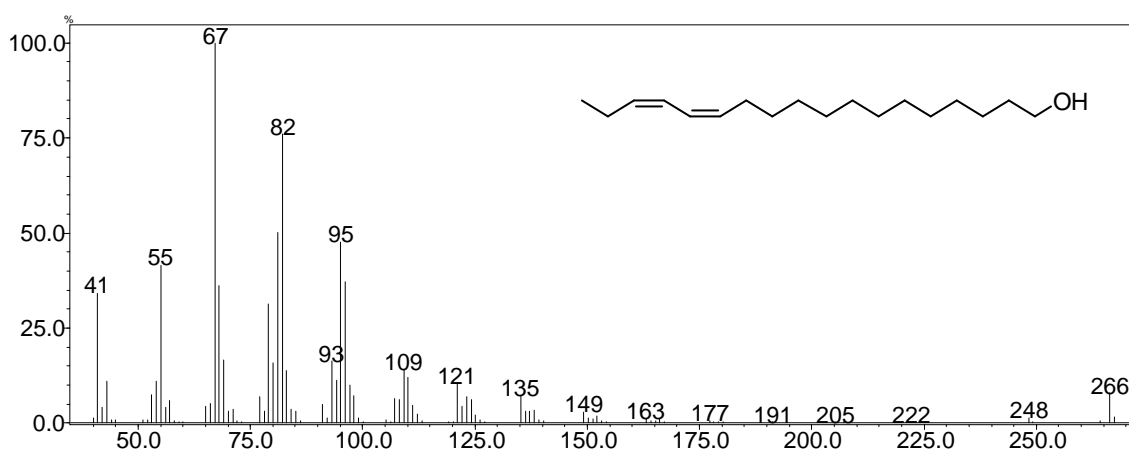


Figura 60. Espectro de massas do composto majoritário **2a**.

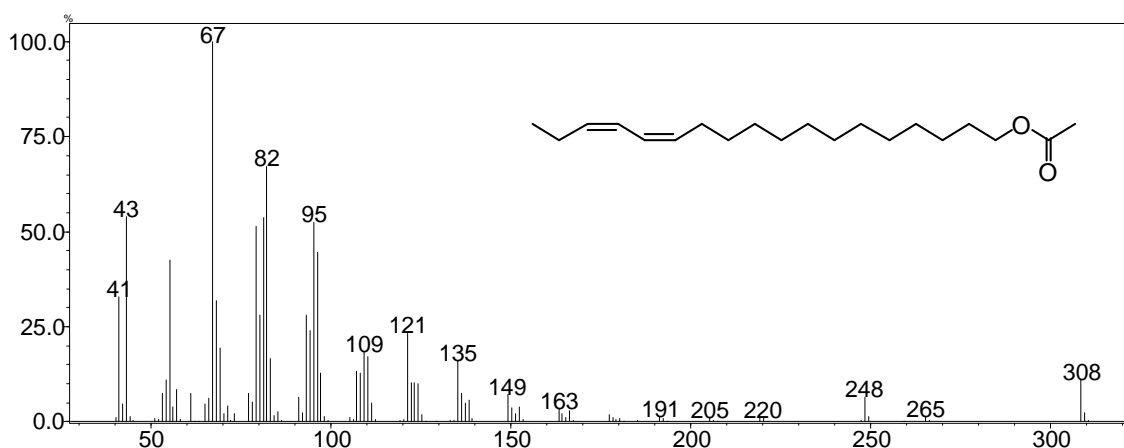


Figura 61. Espectro de massas do composto majoritário **3a**.

De acordo com os resultados obtidos conclui-se que os compostos majoritários da mistura feromonal são alcadienos conjugados com a hipótese de isomeria *Z,Z* sendo assim identificados como sendo o (13*Z*,15*Z*)-octadeca-13,15-dienal (**1a**), (13*Z*,15*Z*)-octadeca-13,15-dien-1-ol (**2a**), e o acetato de (13*Z*,15*Z*)-octadeca-13,15-dien-1-ila (**3a**). Como base nos caminhos biossintéticos de ferômonios de Lepidópteros espera-se com grandes chances que os componentes minoritários que apresentaram respostas eletroantenográficas sejam estereoisômeros desses três compostos majoritários acima identificados. Portanto, com o objetivo de comprovar esta hipótese, foram sintetizados os respectivos estereoisômeros minoritários, os aldeídos (13*Z*,15*E*:18Ald, 13*E*,15*Z*:18Ald, 13*E*,15*E*:18Ald), os álcoois (13*Z*,15*E*:18OH, 13*E*,15*Z*:18OH, 13*E*,15*E*:18OH) e os ésteres (13*Z*,15*E*:18Ac, 13*E*,15*Z*:18Ac, 13*E*,15*E*:18Ac). Todos os compostos sintetizados foram analisados pela técnica espectroscópica de infravermelho (CG-IV) onde nos permitiu identificar a isomeria de cada um dos alcadienos. Sendo assim, analisando os espectros de infravermelho apenas os compostos do grupo 3, os ésteres (**3a**, **3b**, **3c** e **3d**), podemos observar a presença das bandas características de ésteres em 1750 cm⁻¹ referente a deformação axial de C=O e em 1250 cm⁻¹ do estiramento C-O, além das duas bandas em 3040 e 3007 cm⁻¹ relativas à deformação axial de C-H em =C-H do sistema conjugado.

Para os estereoisômeros *Z,E* (**3b**) e *E,Z* (**3c**) identificamos a presença das bandas de deformação angular fora do plano de =C–H em 950 e 987 cm^{-1} caracterizando o sistema conjugado como sendo *Z,E* e *E,Z* (Figura 62) conforme dados observados por Attygalle ^[53] e Kellersmann ^[54].

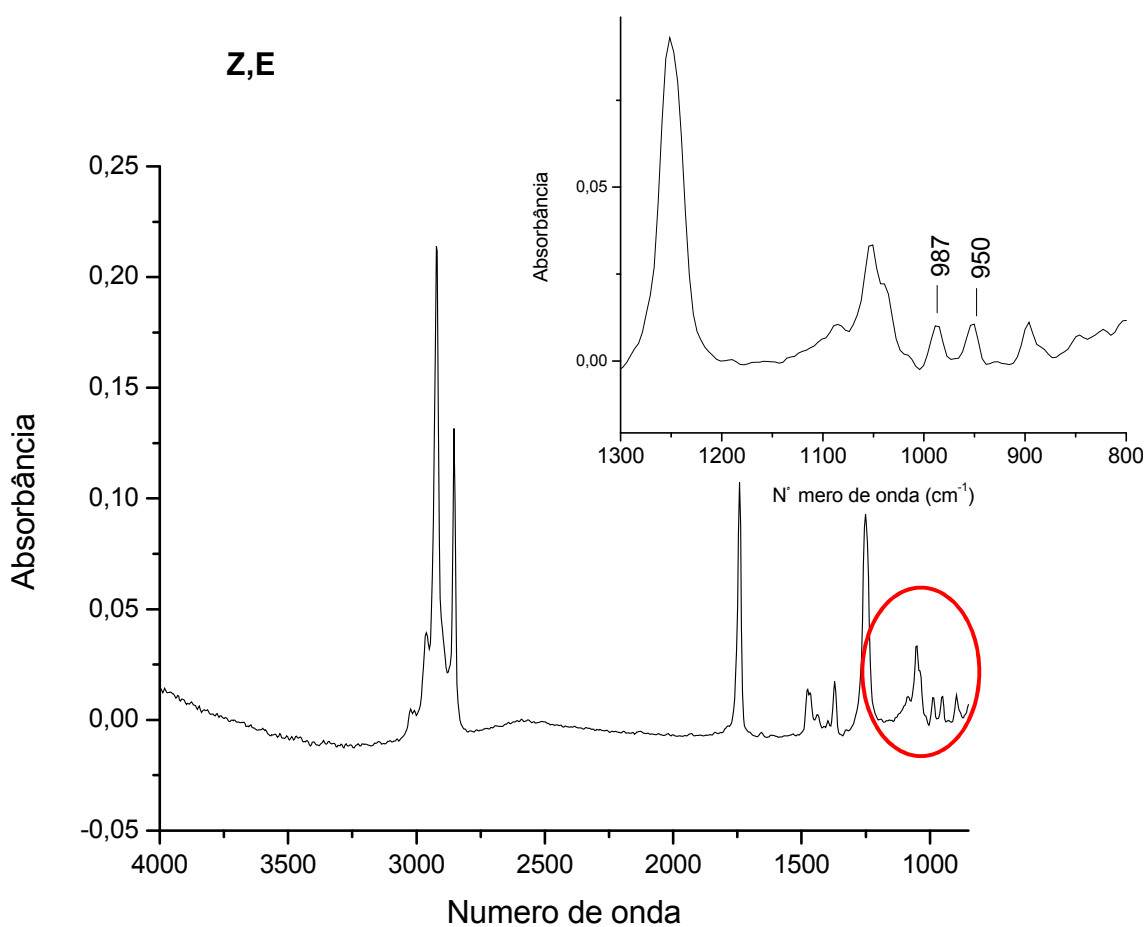


Figura 62. Espectros de infravermelhos de alcadienos conjugados **3b** e **3c**.

A apresenta da banda de deformação angular fora do plano de =C–H em 987cm^{-1} no espectro obtido para o estereoisômero *E,E* (**3d**), evidencia a presença de ligações duplas conjugadas com isomeria *E* (Figura 63).

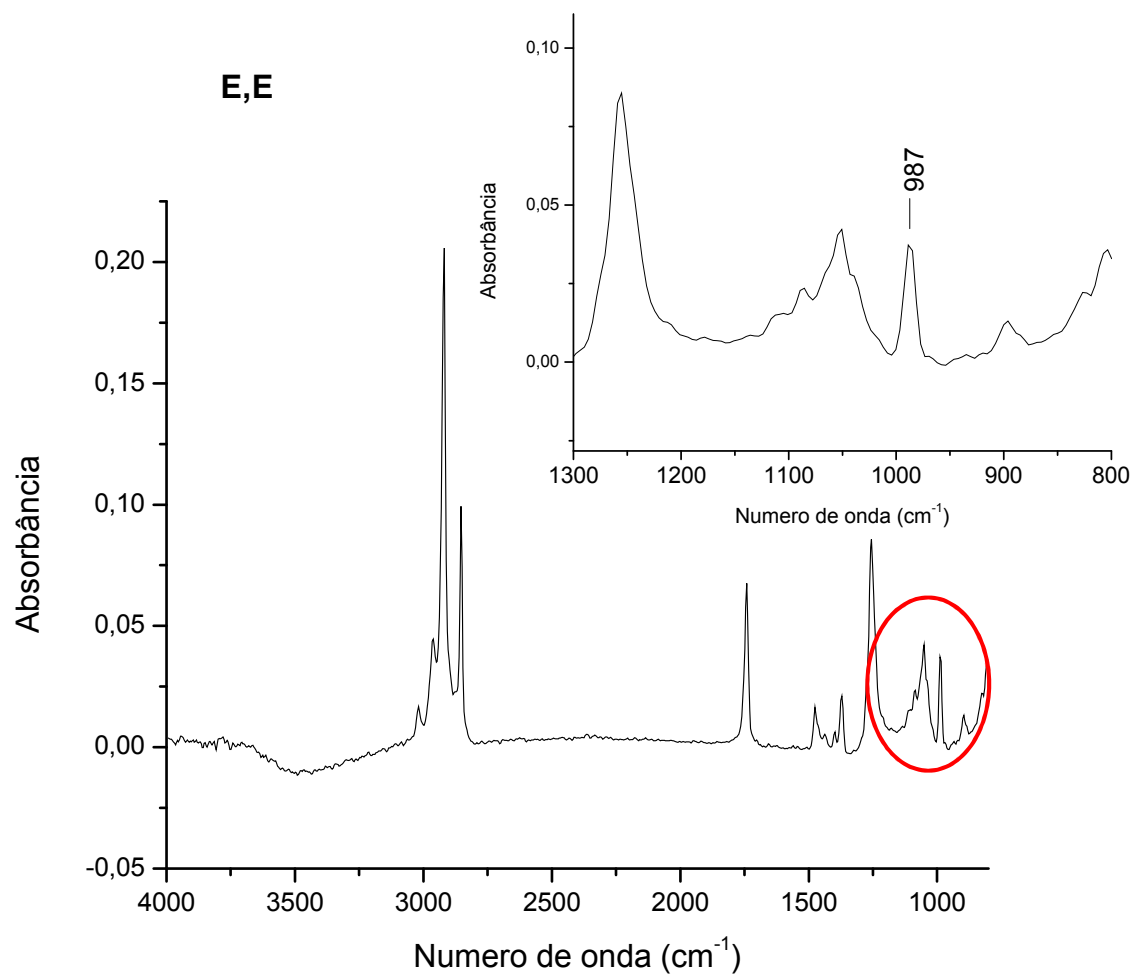


Figura 63. Espectro de infravermelho de alcadieno conjugado **3d**.

No espectro de infravermelho do estereoisômero majoritário *Z,Z* (**3a**) não foi observado nenhuma banda na região de 990 a 940 cm^{-1} conforme relatado por Attygalle para alcadienos conjugados com isomeria *Z,Z*. Esse por sua vez quando comparado com os espectros de infravermelho dos compostos majoritários do feromônio natural, observa-se que os mesmos não possuem bandas na região de 970 a 940 cm^{-1} comprovando nossa hipótese que os componentes majoritários da mistura feromonal fossem alcadienos conjugados com isomeria *Z,Z* (Figuras 64 e 65).

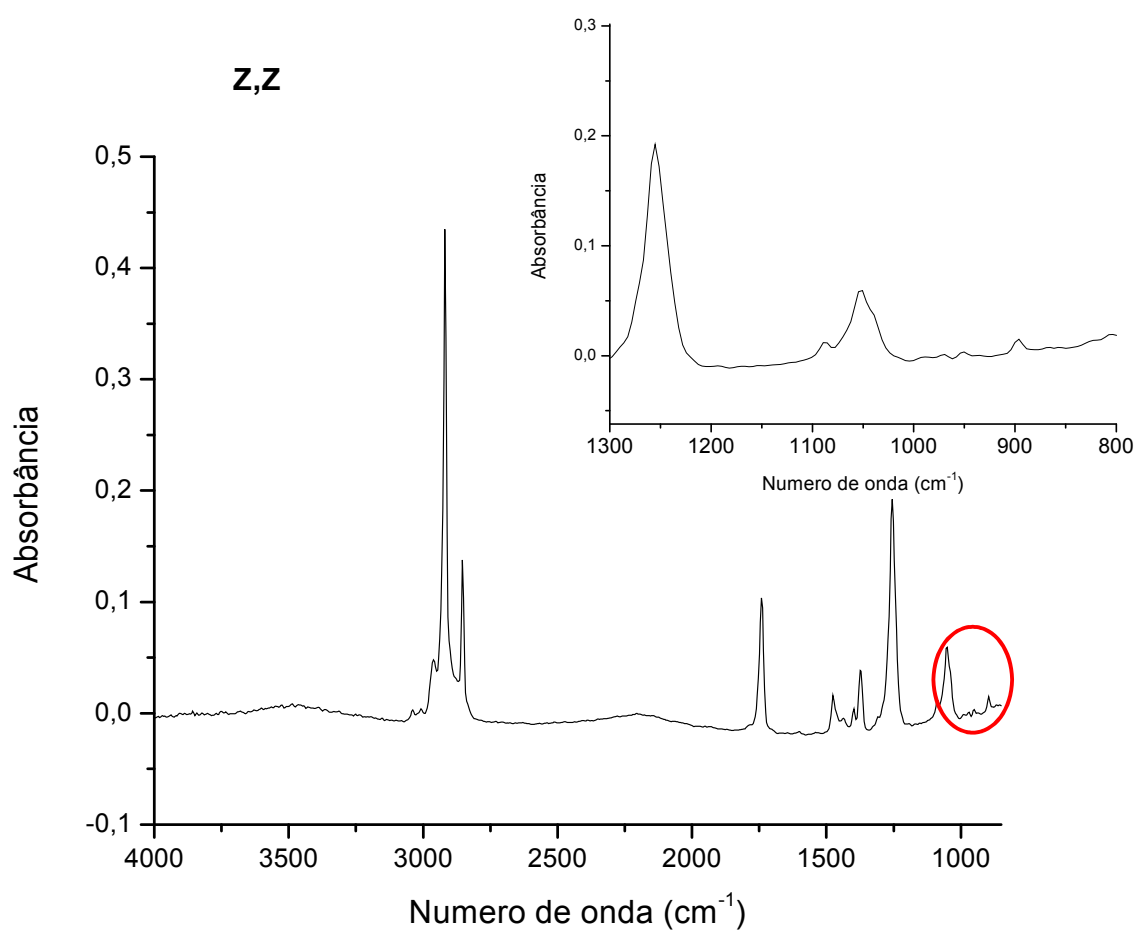


Figura 64. Espectro de infravermelho de alcadieno conjugado **3a**.

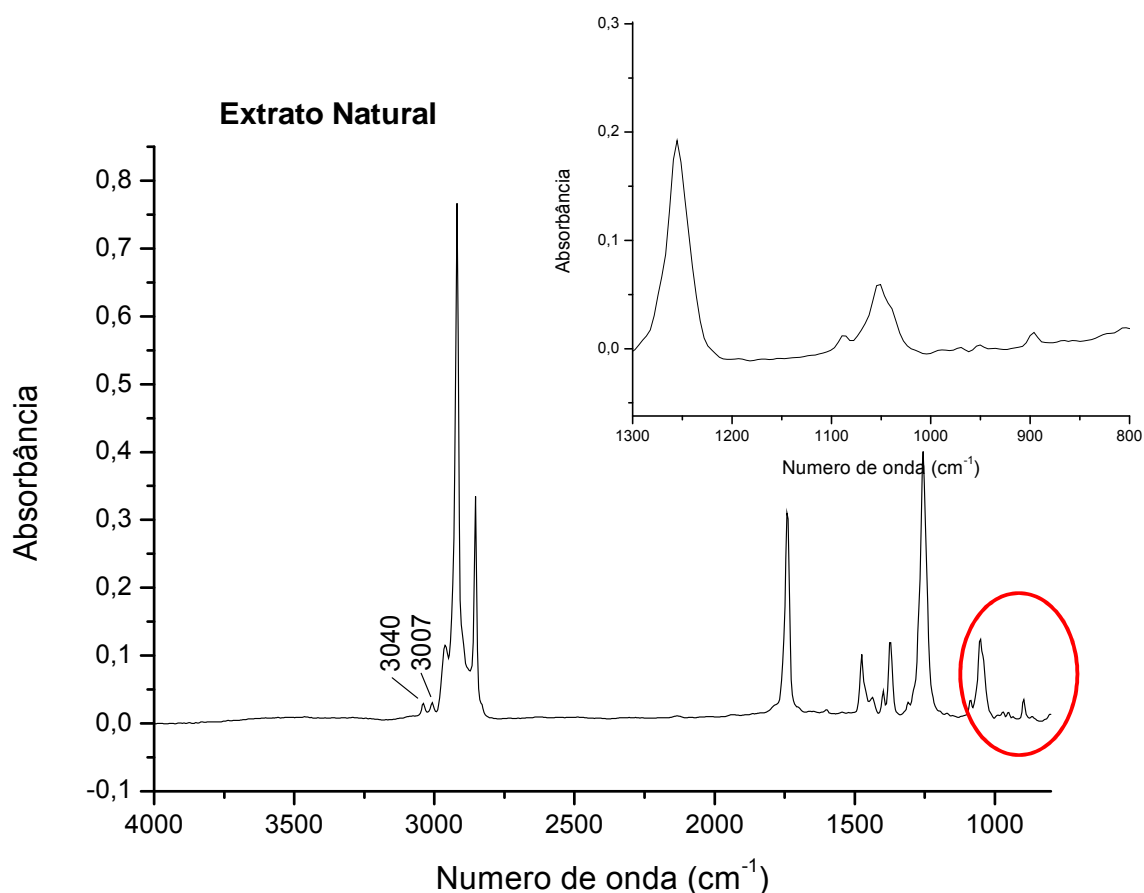


Figura 65. Espectro de infravermelho do éster majoritário do extrato natural de *Thelosia camina*.

Após a síntese de todos os possíveis isômeros propostos para a mistura feromonal de *T. camina*, esses foram co-injetados com o extrato natural das glândulas de fêmeas para que pudéssemos identificar quais desses isômeros constituem o feromônio sexual. Sendo assim através dessa comparação pudemos identificar que apenas os alcadienos conjugados com isomeria *Z,E* (13,15:18Ald (**1b**), 13,15:18OH (**2b**), 13,15:18Ac (**3b**)), os com isomeria *E,Z* (13,15:18Ald (**1c**), 13,15:18OH (**2c**), 13,15:18Ac (**3c**)) e os com isomeria *Z,Z* (13,15:18Ald (**1a**), 13,15:18OH (**2a**), 13,15:18Ac (**3a**)) coeluíram indicando que o estereoisômero *E,E* (13,15:18Ald (**1d**), 13,15:18OH (**2d**), 13,15:18Ac (**3d**)) não faz parte da mistura feromonal de *Thelosia camina* (Figura 66).

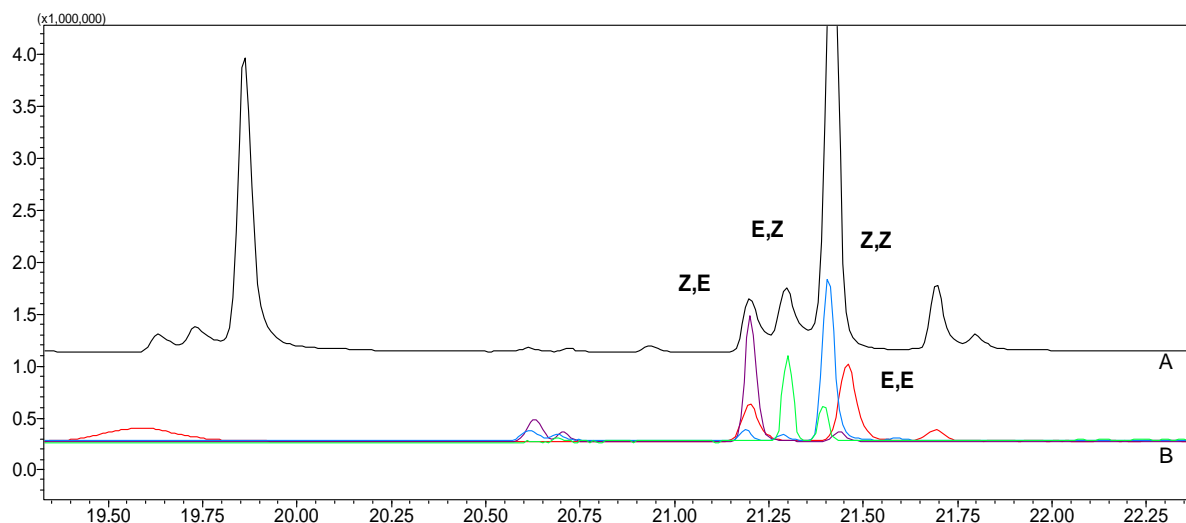
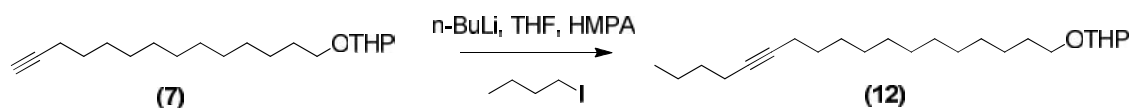


Figura 66. Co-injeção do extrato natural de *T. camina* (A) e dos alcadienos conjugados do grupo 3 (B).

Portanto, após a co-injeção destes compostos em coluna RTX-5 e observação de suas respectivas respostas em CG-EAD, aliada às observações espectroscópicas mencionadas anteriormente levaram à identificação dos componentes majoritários do feromônio sexual de *Thelosia camina* como sendo o (13Z,15Z)-octadeca-13,15-dienal (**1a**), (13Z,15Z)-octadeca-13,15-dien-1-ol (**2a**), acetato de (13Z,15Z)-octadeca-13,15-dien-1-ila (**3a**), e seus respectivos estereoisômeros *E,Z* e *Z,E* (13,15:18Ald, 13,15:18OH, 13,15:18Ac) como componentes minoritários da mistura. Os espectros de massas e de infravermelho dos compostos naturais e dos padrões sintéticos mostraram-se idênticos, confirmando a identificação.

Sendo assim nos resta apenas a identificação dos outros dois compostos que apresentaram respostas bioativas para o extrato natural *Thelosia camina*. Esses compostos foram propostos como possíveis compostos monoinsaturados com configuração *Z* localizada no carbono 13 sendo esses de cadeia linear com 18 átomos de carbono na cadeia principal (compostos **15** e **16**).

4.3.10. Preparação do composto 12



Esquema 17. Preparação do composto 12.

A reação de alquilação do composto **7** com o 1-iodobutano resultou na formação do composto **12** com 76 % de rendimento. Nesta reação, inicialmente formou-se um ânion acetilênico metálico, a partir do composto **7**, empregando-se *n*-BuLi como base para abstração do hidrogênio ácido, ligado ao carbono *sp* do alcino. Este íon foi então alquilado facilmente com o haleto de alquila, permitindo o aumento da cadeia carbônica. Foi necessário à utilização do co-solvente HMPA, que atua na solvatação do cátion deixando o ânion acetilênico livre para reagir com o iodeto. O intermediário **12** foi caracterizado pelo seu espectro de massas (Figura 67) que apresentou o íon molecular de *m/z* 350 e pico base de *m/z* 85.

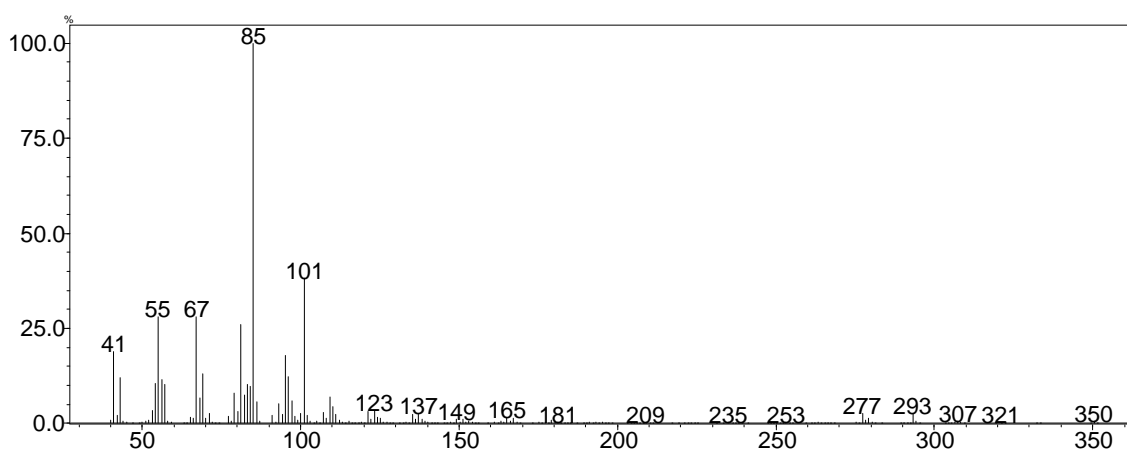
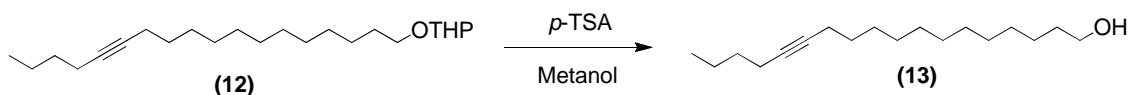


Figura 67. Espectro de massas do composto **12**.

4.3.11. Preparação do composto 13



Esquema 18. Preparação do composto 13.

A etapa de desproteção do composto **12** para a formação do 13-octadecin-1-ol (**13**) foi realizada com 95 % de rendimento. Foi observado no espectro de massas (Figura 68) do produto **13** o íon molecular de m/z 266. O espectro de RMN de ^1H (Figura 69) apresentou um tripleto em 3,63 ppm com constante de 6,5 Hz, referente aos dois hidrogênios ligados ao carbono -hidroxila. No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 70) foi possível observar um sinal do carbono carbinólico em 63,0 ppm.

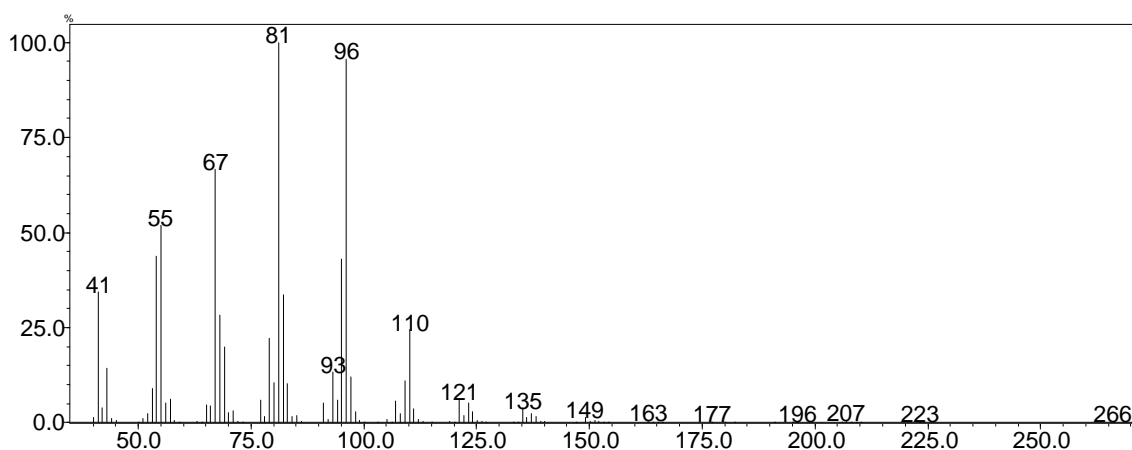


Figura 68. Espectro de massas do composto **13**.

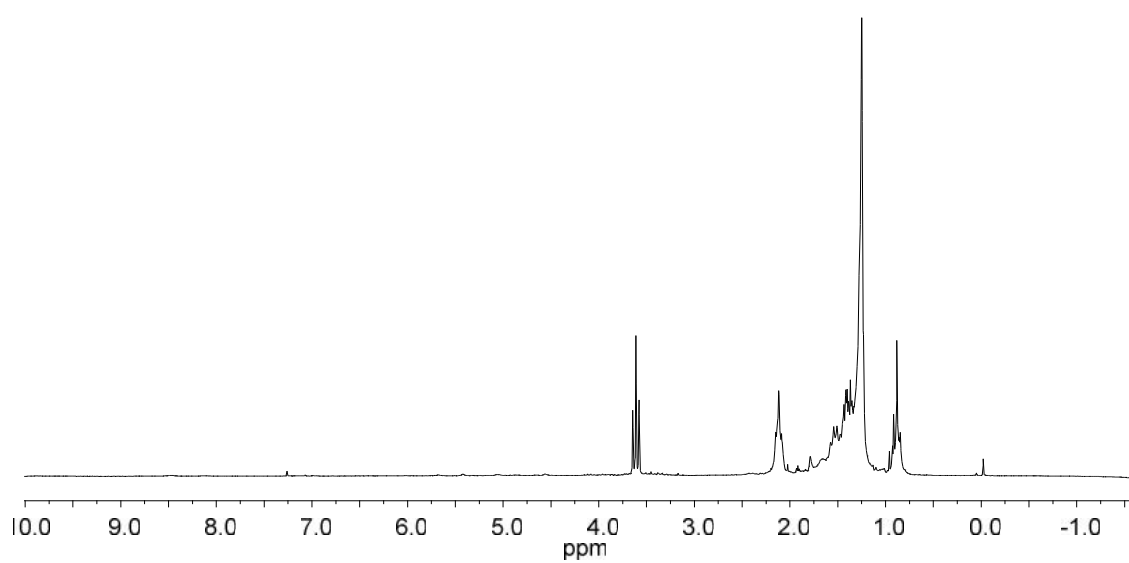


Figura 69. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **13**.

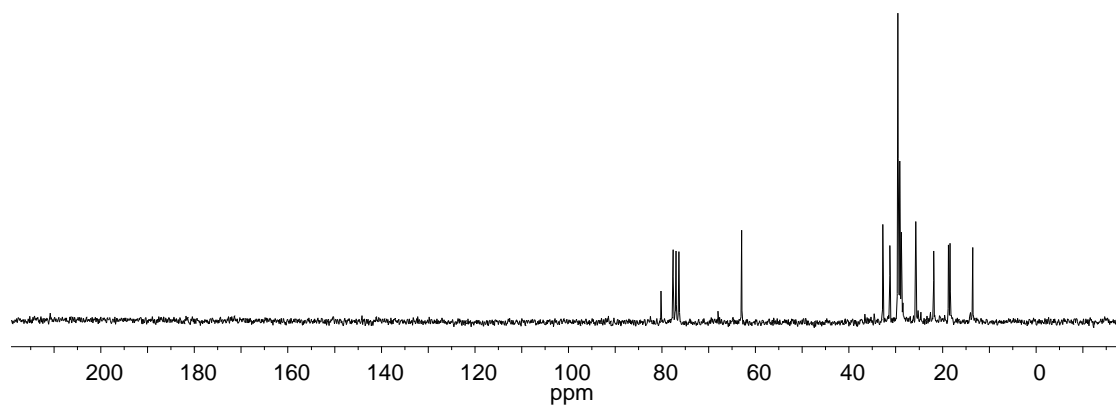
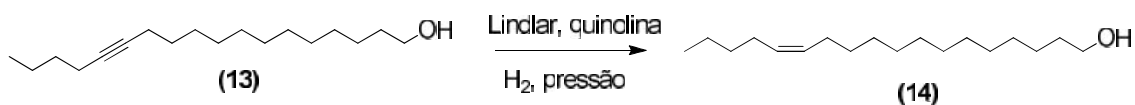


Figura 70. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **13**.

4.3.12. Preparação do composto 14



Esquema 19. Preparação do composto 14.

O intermediário **13** foi reduzido estereosseletivamente por H_2 sobre Pd/CaCO_3 (reagente de Lindlar) para formar o (*Z*)-13-octadecen-1-ol (**14**) em 85 % de rendimento. No espectro de massas (Figura 71) foi observado um fragmento de m/z 250 ($\text{M}^+ - 18$), referente a perda de uma molécula de água, característico de álcoois.

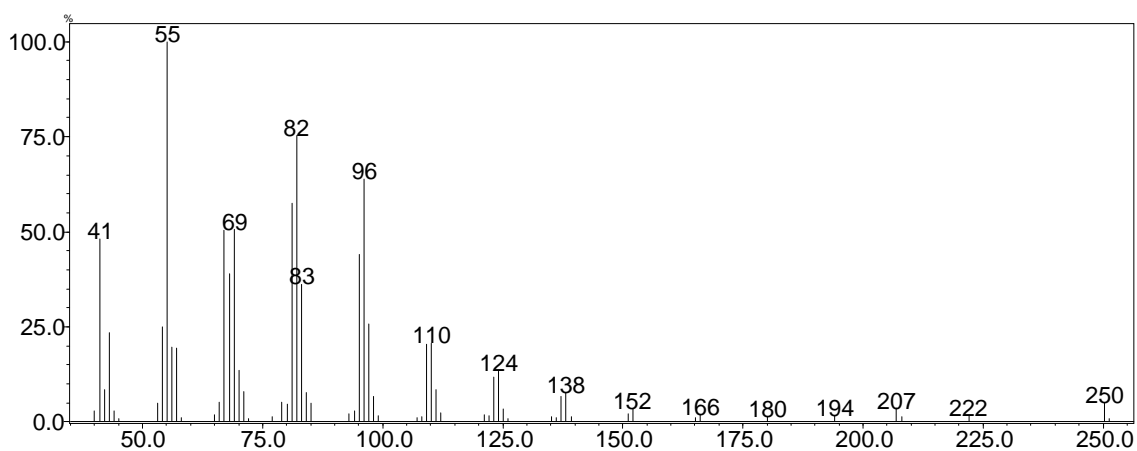
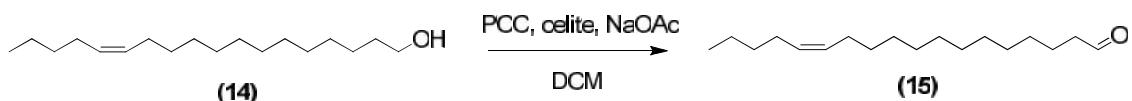


Figura 71. Espectro de massas do composto **14**.

4.3.13. Preparação do composto 15



Esquema 20. Preparação do composto 15.

A etapa de oxidação do álcool primário **14** para a formação do aldeído **15** com 90 % de rendimento foi realizada utilizando reagente clorocromato de piridínio (PCC) capaz de oxidar o álcool primário a aldeído e não prosseguir a oxidação até ácido carboxílico.

O Índices de Kovats 2018 foi calculado para o composto **15** e o seu espectro de massas apresentou o pico do íon molecular (M^+) com valor de m/z 266Da, e a presença do fragmento m/z 237Da ($M - 29$) referente à perda de $\text{CHO}\cdot$ característico de aldeídos (Figura 72).

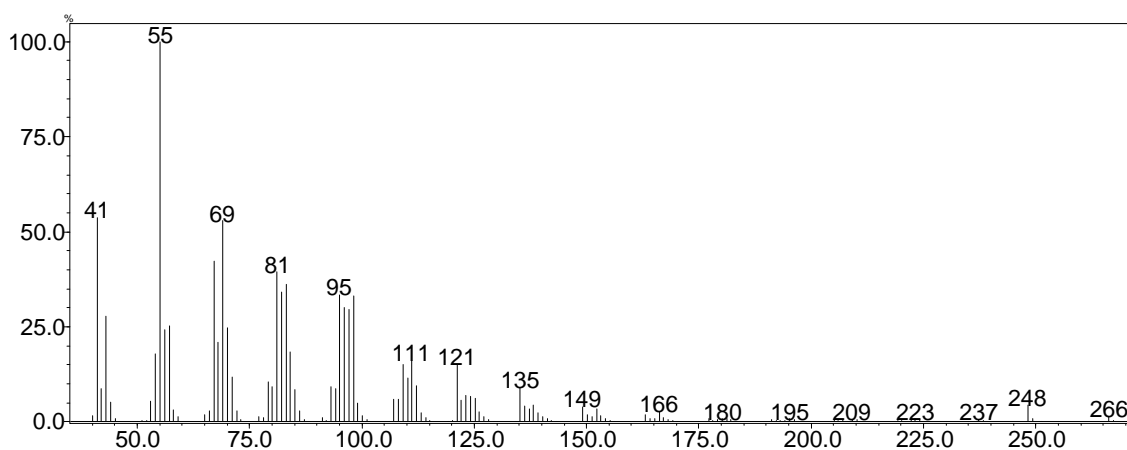
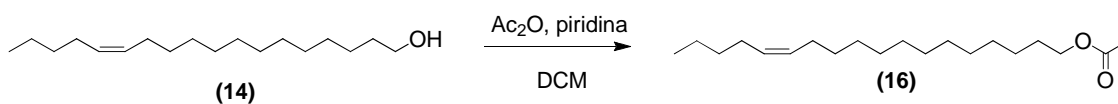


Figura 72. Espectro de massas do composto **15**.

4.3.14. Preparação do composto 16



Esquema 21. Preparação do composto 16.

A reação de acetilação do álcool **14** resultando no éster **16** com 96 % de rendimento foi conduzida utilizando anidrido acético, um agente acetilante comumente usado nas reações de acetilação por reagir rapidamente com grupos hidroxilas livres.

O Índices de Kovats 2202 foi calculado para o composto **16** e o seu espectro de massas apresentou um pico do íon molecular (M^+) com valor de m/z 310Da, um fragmento m/z 250Da ($M^+ - 60$) referente à perda de ácido acético e a presença de um fragmento intenso m/z 43Da referente ao $\text{CH}_3\text{C}=\text{O}$ do acetato, confirmando a estrutura proposta da molécula (Figura 73).

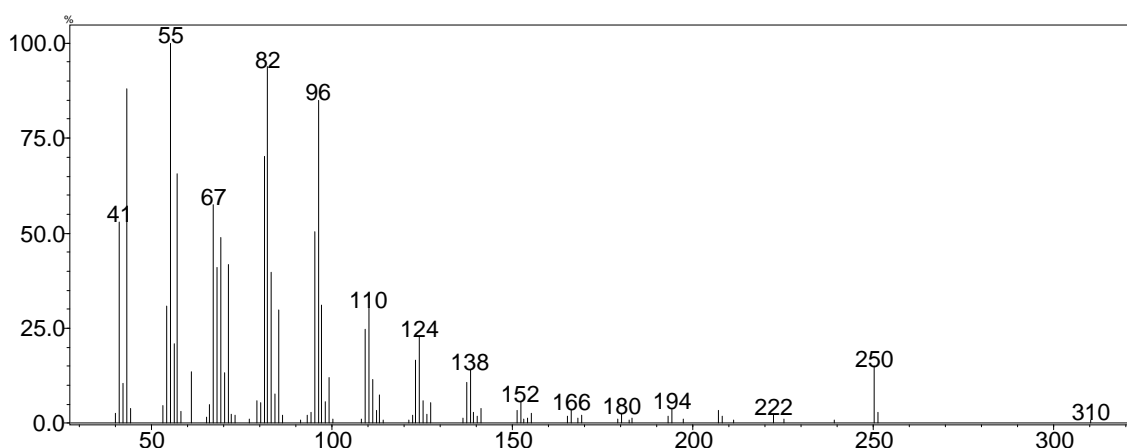


Figura 73. Espectro de massas do composto **16**.

Foram realizadas co-injeções dos produtos sintéticos **15** e **16** juntamente com o extrato natural, nas colunas RTX-5 (Figuras 74 e 76), RTX-WAX e HP-1. Os compostos sintéticos coeluíram com o extrato natural nas três diferentes colunas, com Índices de Kovats idênticos (2018 e 2202 respectivamente) [33,34].

Ao comparar os espectros de massas das estruturas propostas como o extrato natural das glândulas de *T. camina*, verificou-se que os mesmos foram idênticos aos compostos naturais mesmo que para os compostos naturais os espectros de massas estivessem com uma fragmentação menor devido à baixíssima concentração dos mesmos (Figuras 75 e 77), assim como base nos espectros de massas e nos seus respectivos Índices de Kovats foi possível confirmar as estruturas químicas dos componentes da mistura feromonal como sendo o (*Z*)-13-octadecenal e o (*Z*)-13-octadecen-1-ol acetato.

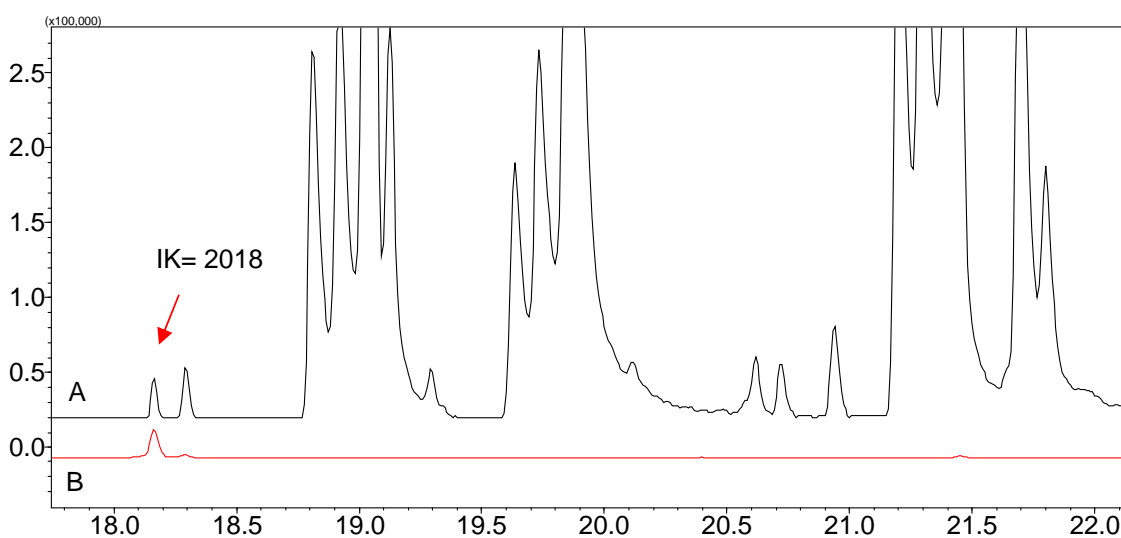


Figura 74. Comparação dos cromatogramas do extrato natural evidenciando composto minoritário (IK=2018) (A) com o composto sintético **15** (B).

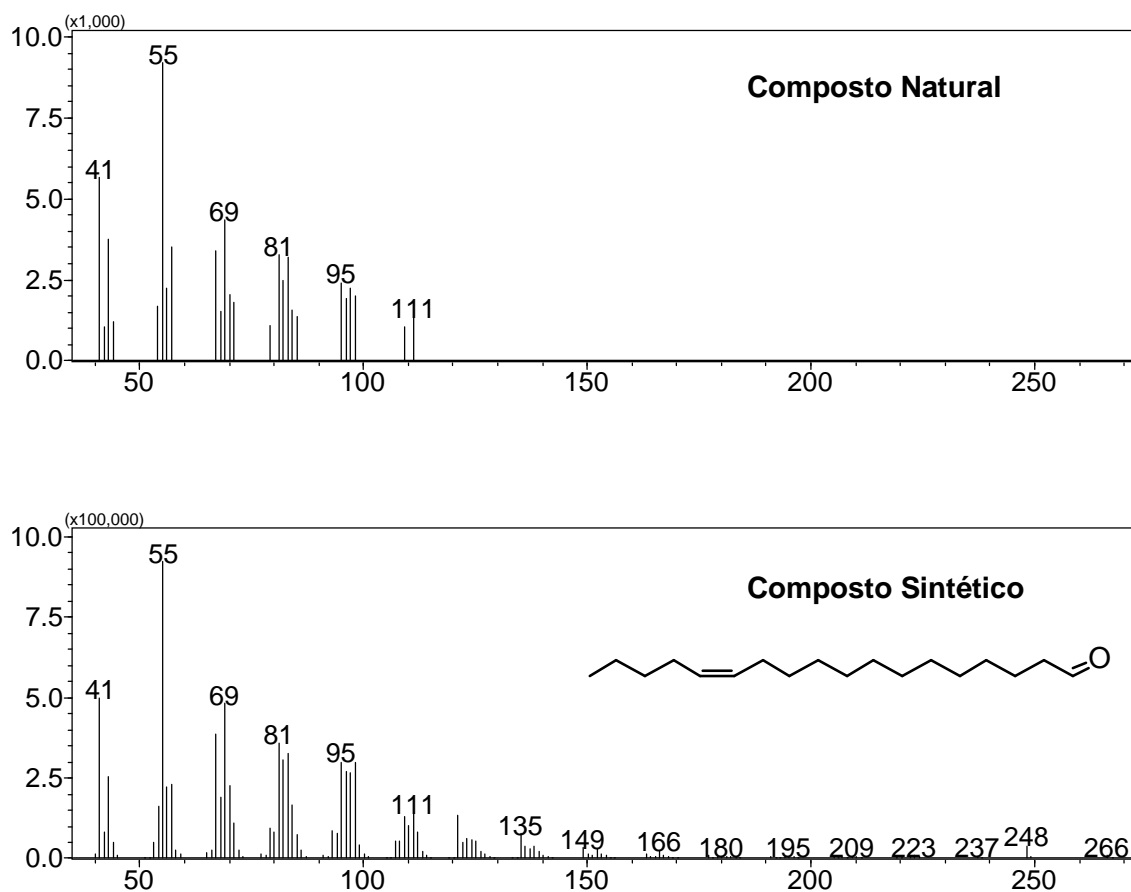


Figura 75. Comparação dos espectros de massas do composto natural minoritário (IK=2018) com o composto sintético **15**.

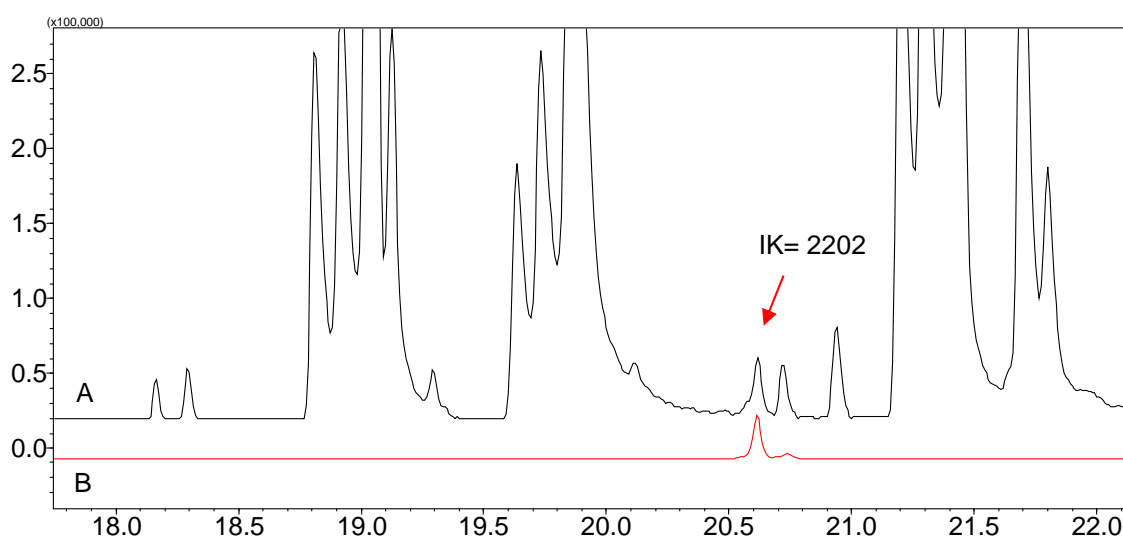


Figura 76. Comparação dos cromatogramas do extrato natural evidenciando composto minoritário (IK=2202) (A) com o composto sintético **16** (B).

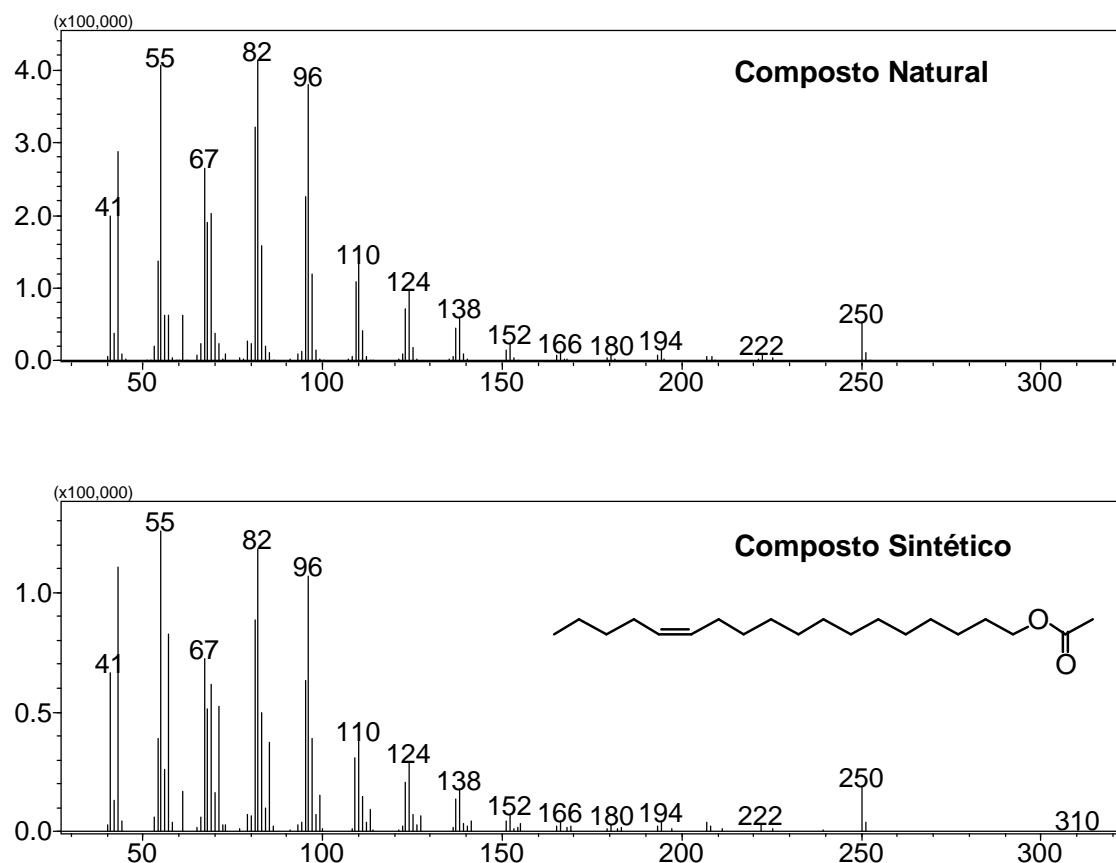


Figura 77. Comparação dos espectros de massas do composto natural minoritário (IK=2202) com o composto sintético **16**.

4.4. TESTE DE CAMPO

Os experimentos de campo realizados no cultivar de erva mate mostraram que houve a captura em todas as armadilhas que continham os compostos sintetizados com concentração de 1 mg (Figura 78) (experimentos a, b, c e d) sugerindo que possivelmente seria necessária apenas à presença dos componentes majoritários (**1a**, **2a**, e **3a**) ou simplesmente o compostos majoritário **3a** em concentrações de 1 mg aonde foi constatada uma ótima atratividade dos machos de *Thelosia camina*. Outro fator que pode ter interferido na atratividade dos insetos ao feromônio é a presença da planta

hospedeira, uma vez que nenhuma armadilha foi posicionada fora da planta hospedeira. As armadilhas foram suspensas 1,5 metro ao nível do solo e presas às plantas hospedeiras (Figura 79). Pontos importantes que devem ser mais bem analisados como o uso de formulações ideais, taxa de liberação adequada, tipo de armadilha, localização das armadilhas nas plantas hospedeiras e as condições ambientais podem comprometer a atratividade dos compostos feromoniais. Os resultados preliminares do teste de campo obtidos nesse estudo demonstram a excelente atratividade dos compostos sintetizados e que existe a necessidade de novos experimentos avaliando as várias hipóteses levantadas nesse trabalho.

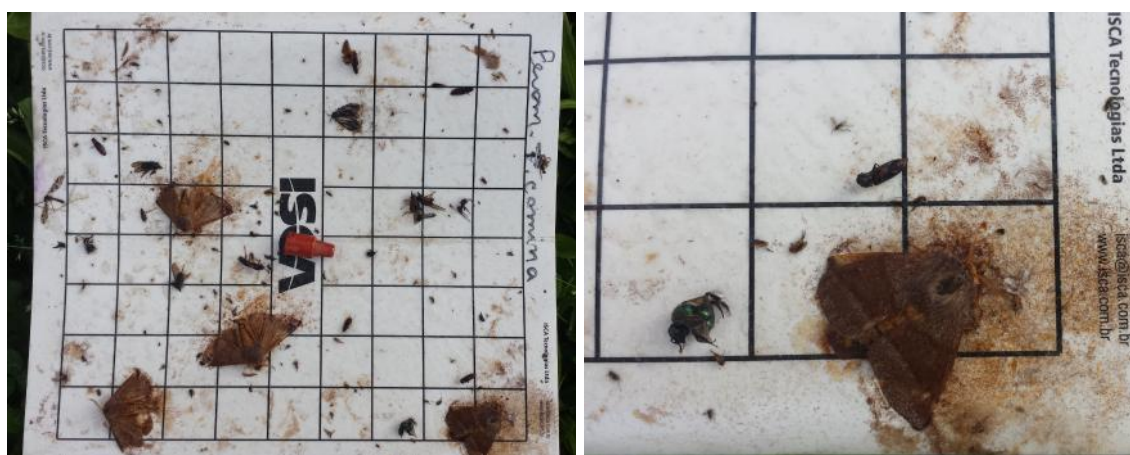


Figura 78. Machos de *Thelosia camina* capturados no teste de campo na armadilha contendo 1mg dos componentes majoritários da mistura feromonal.



Figura 79. Armadilha do tipo “Delta” juntamente com o liberador de feromônio, utilizada para captura de machos de *Thelosia camina*.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesse trabalho conclui-se que os três compostos majoritários da mistura feromonal de *Thelosia camina* são alcadienos conjugados com isomeria *Z,Z* sendo identificados através das técnicas espectroscópicas e espectrometrias como infravermelho e massas. Os compostos identificados foram: o (13*Z*,15*Z*)-octadeca-13,15-dienal (**1a**), o (13*Z*,15*Z*)-octadeca-13,15-dien-1-ol (**2a**), e o acetato de (13*Z*,15*Z*)-octadeca-13,15-dien-1-ila (**3a**). Além desses compostos, baseado nos caminhos biossintéticos de ferômonios de Lepidópteros os componentes minoritários que apresentaram respostas eletroantenográficas foram identificados como sendo estereoisômeros dos três compostos majoritários acima identificados.

Todos os compostos da mistura feromonal foram sintetizados e analisados pela técnica espectroscópica de infravermelho (CG-IV) onde nos permitiu identificar a isomeria de cada um dos alcadienos sintetizados.

Os compostos sintetizados foram co-injetados com o extrato natural, mas apenas os alcadienos conjugados com isomeria *Z,E*, *E,Z* e *Z,Z* coeluíram indicando que o estereoisômero *E,E* não faz parte da mistura feromonal de *Thelosia camina*.

Outros dois compostos também apresentaram respostas bioativas, esses foram proposto a partir da biossíntese do inseto como sendo um aldeído e um éster com 18 carbonos na cadeia principal, monoinsaturados com a insaturação na posição 13 com configuração *Z*. Esses compostos foram sintetizados e tiveram seus espectros de massas e nos seus respectivos Índices de Kovats comparados com os do extrato natural, confirmando as estruturas químicas dos componentes da mistura feromonal como sendo o (*Z*)-13-octadecenal e o (*Z*)-13-octadecen-1-ol acetato.

As estruturas sintetizadas foram submetidas a testes de campo em plantações de erva mate onde testes preliminares demonstraram uma ótima atratividade dos machos *Thelosia camina* através da captura desses insetos em armadilhas contendo os compostos sintetizados.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] STILING, P. D., Ecology: Theories and Applications Prentice Hall, 1996.
- [2] PAYNE, T. L. Pheromone Perception. Pp. 35-61 in Birch, M. (ed.). Pheromones. American Elsevier, New York. 1974.
- [3] TASIN, M., ANFORA, G., IORIATTI, C., CARLIN, S., DE CRISTOFARO, A., SCHMIDT, S., BENGTSSON, M., VERSINI, G., WITZGALL, P., Antennal and behavioral responses of grapevine moth *Lobesia botrana* females to volatiles from grapevine. *Journal of Chemical Ecology*, v. 31, p.77-87, 2005.
- [4] ZARBIN, P. H. G., RODRIGUES, M. A. C. M., LIMA, E. R. Feromônios de insetos: tecnologia e desafios para uma agricultura competitiva no Brasil. *Química. Nova*, v.32, p.722-731, 2009.
- [5] LEAL, W. S. The chemistry of pheromones and other semiochemicals II: topics in current chemistry. Pheromone Reception. In: Schulz, S. (Ed.). Berlin: Springer. v.1, p.1-36. 2005.
- [6] Infochemical terminology: should it be base on coast-benefit analisys rather than origin of compounds .
- [7] KARLSON, P., LUSCHER, M., Pheromones - new term for a class of biologically active substances. *Nature*, v. 183, p.55-56, 1959.
- [8] BATRA, S. W. T., Polyester-making bees and other innovative insect chemists. *Journal of Chemical Education*, v. 62, p.121-124, 1985.
- [9] JURENKA, R. The chemistry of pheromones and other semiochemicals I. Insect Pheromone Biosynthesis. v.239, p.97–132, 2004.
- [10] SCHOWALTER, T. D. Insect ecology: an ecosystem approach. San Diego, California, USA: Elsevier. p,471, 2006.
- [11] SÁ, M. M.; FERNANDES, L. Os Insetos se comunicam. *Revista eletrônica do Departamento de Química – UFSC*, ano 4, jul. 2001.
- [12] MORAES, M. C. B.; SOUSA, L. M. P.; LAUMANN, R.; BORGES, M. Metodologia para estudos de semioquímicos e a sua aplicação no manejo de pragas. A influência de voláteis de soja no comportamento do parasitóide *Telenomus podisi*. *Circular Técnica*, Brasília, v. 24, dez. 2003.

- [13] MEDRADO, M. J. S. Cultivo da erva-mate. Colombo: Embrapa Florestas, 2005. (Embrapa Florestas. Sistemas de produção).
- [14] MAZUCHOWSKI, J. Z. (Coord.). Normativos legais e as prioridades para pesquisas tecnológicas na cadeia produtiva da erva-mate. Curitiba: Câmara Setorial da Cadeia Produtiva da Erva-mate, 2000. 158 p. (Série PADCT, n. 3). Projeto Plataforma Tecnológica da Erva-mate do Paraná. Convênio n. 02/01 – 1998 / PADCT III / PLAT. Processo n. 62.0023/99-6.
- [15] KOBE, E.; VARGAS, E. Biologia e controle da “lagarta-da-erva-mate” (*Thelosia camina* Schaus, 1920) (Lepidoptera: Eupterotidae). Revista da Escola de Agronomia e Veterinária do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, v. 3, p. 7-35, 1960.
- [16] SILVA, C. F.; PEDROSA-MACEDO, J. H.; SOUZA, N. J.; CORREA, R. M.; VENSON, I.; TREFFLICH, K.; ANGELO, A. C. Alguns aspectos biológicos de *Thelosia camina* Schaus, 1920, a “lagarta-da-erva-mate”. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 17.; ENCONTRO NACIONAL DE FITOSSANITARISTAS, 8., 1998, Rio de Janeiro. Resumos. Rio de Janeiro: [s.n.], 1998. p. 770.
- [17] GRIGOLETTI JUNIOR, A.; AUER, C. G.; IEDE, E. T.; SOARES, C. M. S. Manual de identificação de pragas e doenças da erva mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). Colombo: Embrapa Florestas, 2000. 24 p. (Embrapa Florestas. Documentos, 44).
- [18] SOARES, C. M. S.; IEDE, E. T. Perspectivas para o controle da broca da erva-mate, *Hedypathes betulinus* (Klug, 1825) (Col.: Cerambycidae). In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA-MATE, 1.; REUNIÃO TÉCNICA DO CONE-SUL SOBRE A CULTURA DA ERVA-MATE, 2., 1997, Curitiba. Anais. Colombo: EMBRAPA-CNPQ, 1997. p. 391-400. (EMBRAPA-CNPQ. Documentos, 33)
- [19] DALLA SANTA, H. S.; SOUSA, N. J.; BRAND, D.; DALLA SANTA, O. R.; PANDEY, A.; SOBOTKA, M.; PÁÇA, J.; SOCCOL, C. R. Conidia production of *Beauveria* sp. by solid-state fermentation for biocontrol of *Ilex paraguariensis* caterpillars. Folia Microbiologica, v. 49, n. 4, p. 418-422, 2004.
- [20] BENTO, J. M. S.; PARRA-PEDRAZZOLI, A. L. Feromônios e o controle biológico de pragas. In: PINTO, A. de S.; NAVA, D. E.; ROSSI, M. M.;

MALERBO-SOUZA, D. T. (Org.). Controle biológico de pragas: na prática. Piracicaba: CP 2, 2006, p. 213-219.

[21] LINGREN, P. D.; GRENE, G. L.; DAVIS, D. R.; BAUMHOVER, A. H.; HENNEBERRY, T. J. Nocturnal behavior of four lepidopteran pest that attack tobacco and other crops. *Annals of the Entomological Society of America*, v. 70, p. 161-167, 1977.

[22] ARN, H.; TÓTH, M. E. PRIESNER, E.; International Organization for Biological Control, Montfavet, p. 79, 1992.

[23] ROELOFS, W., ROONEY, A.P. Molecular genetics and evolution of pheromone biosynthesis in Lepidoptera. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100, 9179-9184, 2003.

[24] TILLMAN, J. A., SEYBOLD, S. J., JURENKA, R. A. & BLOMQUIST, G. J.; Insect pheromones--an overview of biosynthesis and endocrine regulation. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, no. 29, p. 481–514, 1999.

[25] BUTENANDT, A., BECKMAN, R., STAMM, D. & HECKER, E. Z. *Naturforsch. B14*, p. 283–284, 1959.

[26] ANDO, T., HASE, R., ARIMA, R. & UCHIYAMA, M.; *Agricultural Biological Chemistry*, no. 52, p. 473–478, 1988.

[27] MOTO, K., YOSHIGA, T., YAMAMOTO, M., TAKAHASHI, S., OKANO, K., ANDO, T., NAKATA, T., MATSUMOTO, S.; Pheromone gland-specific fatty-acyl reductase of the silkworm, *Bombyx mori*, Proceedings of the National Academy of Sciences USA no. 100, p. 9156–9161, 2003.

[28] JURENKA, R. A.; Biosynthetic pathway for producing the sex pheromone component (Z,E)-9-12-tetradecadienyl acetate in moths involves a 12 desaturase. *Cellular and Molecular Life Sciences*. V. 53, p. 501, 1997.

[29] Coleta e criação da lagartada- erva-mate, para estudos em laboratório. Comunicado Técnico 254 ISSN 1517-503; outubro-2010.

[30] LEAL, W. S., MOCHIZUKI, F., WAKAMURA, S., YASUDA, T., electroantennographic detection of anomala-cuprea hope (coleoptera, scarabaeidae) sex-pheromone. *Applied Entomology and Zoology*, v. 27, p.289-291, 1992.

[31] LEAL, W. S., KAWAMURA, F., ONO, M., The scarab beetle Anomala-albopilosa-sakishimana utilizes the same-sex pheromone blend as a closely-

related and geographically isolated species, *Anomala-cuprea*. Journal of Chemical Ecology, v. 20, p.1667-1676, 1994.

[32] LEAL, W. S., OEHLISCHLAGER, A. C., ZARBIN, P. H. G., HIDALGO, E., SHANNON, P. J., MURATA, Y., GONZALEZ, L., ANDRADE, R., ONO, M., Sex pheromone of the scarab beetle *Phyllophaga elenans* and some intriguing minor components. Journal of Chemical Ecology, v. 29, p.15-25, 2003.

[33] MARQUES, F. D., MCELFFRESH, J. S., MILLAR, J. G., Kovats retention indexes of monounsaturated C-12, C-14, and C-16 alcohols, acetates and aldehydes commonly found in lepidopteran pheromone blends. Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 11, p.592-599, 2000.

[34] KOVATS, E., Gas-chromatographische charakterisierung organischer verbindungen .1. retentionsindices aliphatischer halogenide, alkohole, aldehyde und ketone. Helvetica Chimica Acta, v. 41, p.1915-1932, 1958.

[35] ATTYGALLE, A. B. 1998. Microchemical Techniques. Pp. 390 in Millar, J. G. H., Kenneth (ed.). Methods in Chemical Ecology. Chapman & Hall.

[36] ARMAREGO, W. L. F., CHAI, C. L. L., Purification of Laboratory Chemicals, Elsevier, Canberra, 2009.

[37] CHONG, J. M., HEUFT, M. A., RABBAT, P., Solvent effects on the monobromination of alpha,omega-diols: A convenient preparation of omega-bromoalkanols. Journal of Organic Chemistry, v. 65, p.5837-5838, 2000.

[38] ZARBIN, P. H. G., LORINI, L. M., AMBROGI, B. G., VIDAL, D. M., LIMA, E. R., Sex pheromone of *Lonomia obliqua*: Daily rhythm of production, identification, and synthesis. Journal of Chemical Ecology, v. 33, p.555-565, 2007.

[39] SANTANGELO, E. M., CORACINI, M., WITZGALL, P., CORREA, A. G., UNELIUS, C. R., Identification, syntheses, and characterization of the geometric isomers of 9,11-hexadecadienal from female pheromone glands of the sugar cane borer *Diatraea saccharalis*. Journal of Natural Products, v. 65, p.909-915, 2002.

[40] ALAMI, M.; GUEUGNOT, S.; DOMINGUES, E.; LINSTRUMEILE, G. An Efficient Synthesis of 1,3(E),5(Z), 1,3(E),5(E) and 1,3(Z),5(Z)-Tienes: Application to the Synthesis of Galbanolenes and (9Z,11E)-9,11,13-Tetradecatrien-1-yl Acetate. Tetrahedron v. 51. No. 4, pp. 1209-1220, 1995.

- [41] RENZO ROSSI, ADRIANO CARPITA. Stereospecific synthesis of (*Z*)-13-hexadecen-11-yn-1-yl acetate. *Tetrahedron* v.39, n.3, p. 287-290, 1983.
- [42] RAJ K. SARAN, JOCELYN G. MILLAR, MICHAEL K. RUST. Role of (3*Z*,6*Z*,8*E*)-dodecatrien-1-ol in Trail Following, Feeding, and Mating Behavior of *Reticulitermes hesperus*. *Journal of Chemical Ecology*, v. 33, p. 369–389, 2007.
- [43] O. LOREAU, A. MARET, J.M. CHARDIGN, J.L. SÉBÉDIO, J.P. NOEL. Sequential substitution of 1,2-dichloro-ethene: a convenient stereoselective route to (9*Z*,11*E*)-, (10*E*,12*Z*)- and (10*Z*,12*Z*)-[1-¹⁴C] conjugated linoleic acid isomers. *Chemistry and Physics of Lipids* p.57-67, 2001.
- [44] KENJI MORI. New synthesis of (11*Z*,13*Z*)-11,13-hexadecadienal, the female sex pheromone of the navel orangeworm. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* v. 73, n. 12, p. 2727-2730, 2009.
- [45] JACEK GRODNER. An alternative synthesis of (8*E*,10*Z*)-tetradeca-8,10-dienal, sex pheromone of horse-chestnut leafminer (*Cameraria ohridella*). *Tetrahedron* v. 65, p. 1648–1654, 2009.
- [46] ZARBIN, P. H. G., Síntese enantiosseletiva do 2,6,10-trimetidodecanoato de metila: Feromônio sexual do percevejo da soja (*Euchistus obscurus*), Dissertação de Mestrado, Química, 1995.
- [47] KANG, S. K.; PARK, S. K. A stereoselective synthesis of (*Z*, *Z*)-3,13-octadecadien-1-yl acetate, and its (*E*, *Z*)-isomer, the sex pheromone of the cherry tree borer, *Synanthedon hector* Butler. *Bull. Korean Chemical Society* v. 9, p. 149-152, 1988.
- [48] OVERMAN, L. E.; BROWN, M. J.; MCCANN, S. F. (*Z*)-4-(trimethylsilyl)-3-buten-1-ol. *Organic Syntheses* v. 8, 609-613, 1993.
- [49] ATTYGALLE, A. B., SVATOS, A., WILCOX, C., VOERMAN, S., Gas-phase infrared-spectroscopy for determination of double-bond configuration of monounsaturated compounds. *Analytical Chemistry*, v. 66, p.1696-1703, 1994.
- [50] ATTYGALLE, A. B., Gas-phase infrared-spectroscopy in characterization of unsaturated natural-products. *Pure and Applied Chemistry*, v. 66, p.2323-2326, 1994.
- [51] LEONHARDT, B. A., DEVILBISS, E. D., KLUN, J. A., Gas-chromatographic mass-spectrometric indication of double-bond position in monounsaturated

primary acetates and alcohols without derivatization. *Organic Mass Spectrometry*, v. 18, p.9-11, 1983.

[52] ATTYGALLE, A. B., SVATOS, A., WILCOX, C., VOERMAN, S., Gas-phase infrared-spectroscopy for determination of double-bond configuration of some polyunsaturated pheromones and related compounds. *Analytical Chemistry*, v. 67, p.1558-1567, 1995.

[53] C. KELLERSMANN, H. STEINHART, AND W. FRANCKE. Syntheses of Conjugated Octadecadienoic Acids. *Lipids*. v. 41, p. 777–788, 2006.

[54] YOUNG, D. C., VOUIROS, P., DECOSTA, B., HOLICK, M. F., Location of conjugated diene position in an aliphatic chain by mass-spectrometry of the 4-phenyl-1,2,4-triazoline-3,5-dione adduct. *Analytical Chemistry*, v. 59, p.1954-1957, 1987.

[55] SONOGASHIRA, K.; TOHDA, Y.; HAGIHARA, Convenient synthesis of acetylenes - catalytic substitutions of acetylenic hydrogen with bromoalkenes, iodoarenes, and bromopyridines. *Tetrahedron Letters*, n. 50 p. 4467-4470, 1975.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Paulo H. G. Zarbin por todos estes anos de orientação, ensinamentos, amizade e grandes oportunidades proporcionadas.

Aos professores Dr. Angel Guerrero e Dra. Pilar (CSIC, Espanha) pela hospitalidade e oportunidades proporcionadas durante o período de doutorado sanduíche.

Aos professores Dr. Leandro Piovan e Dra. Maria Aparecida Ferreira César-Oliveira (UFPR) pelos valiosos conselhos e conhecimentos transmitidos e por participar da banca de avaliação desta tese.

Aos professores Dr. Antonio Luiz Braga (UFSC) e Dra. Francinete Ramos Campos (UFPR) pela pronta disponibilidade em avaliar esta tese.

À Embrapa Floresta pela colaboração disponibilizando suas plantações para coleta e futuros testes de campo com *Thelosia camina*.

À Universidade Federal do Paraná e ao Departamento de Química, por toda a infraestrutura disponibilizada e pela oportunidade de formação em uma instituição reconhecida por sua excelência no ensino.

À CAPES pelo suporte financeiro durante todo o período de doutorado.

Aos antigos e novos colegas do Laboratório de Semioquímicos, pela agradável convivência, discussões científicas e agradáveis momentos de descontração que ficarão guardados com carinho na memória.

À minha família que tanto amo, por sempre estar incondicionalmente ao meu lado, sendo um suporte indispensável para todas as decisões tomadas.

À minha esposa Ana, por todo o carinho, compreensão e companheirismo na realização deste trabalho.

Aos meus amigos, que sempre fizeram com que tudo se tornasse mais leve, divertido e proveitoso.

A todos aqueles que de alguma maneira colaboraram para a realização deste trabalho.